
CODEX

ENOLÓGICO

INTERNACIONAL



**ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL
DE LA VIÑA Y EL VINO**

***CODEX
ENOLÓGICO
INTERNACIONAL***

EDICIÓN 2006



INCLUIDA:
Resoluciones adoptadas en París (Francia)
3º A.G. – 17 de junio de 2005

ADVERTENCIA:

En 2000, la OIV adoptó 40 monografías de productos utilizados en enología que constituyen la nueva edición del **Codex Enológico Internacional** y que se incluyen en este documento en papel blanco.

Esta importante contribución científica sigue su curso con el fin de poner al día las antiguas monografías restantes o agregar nuevas monografías para que concuerden con las fichas del **Código Internacional de las Prácticas Enológicas**.

La Subcomisión de Unificación de los Métodos de Análisis y de Apreciación de los Vinos de la OIV, que tiene a su cargo la revisión del Codex Enológico Internacional, ha igualmente comenzado el trabajo de revisión del Capítulo II « Técnicas analíticas y de control » y del Capítulo III « Reactivos y soluciones valoradas ». Este trabajo ha permitido la adopción en 2003 de nuevas monografías de los capítulos mencionados.

Introducción

El **Codex Enológico Internacional** reúne las descripciones de los principales productos químicos, orgánicos o gases utilizados en la elaboración y la conservación de vinos.

En él se establecen igualmente las condiciones de su empleo, el modo y los límites de su utilización, aunque debe tenerse en cuenta que la autorización para su empleo depende de las legislaciones nacionales.

También se describen y precisan en el presente **Codex** los caracteres de identificación y el grado de pureza de estos productos, así como la eficacia mínima exigida para poder ser calificados "*conforme al Codex Enológico Internacional*".

Por otra parte, aparece en el **Codex** la definición o la fórmula de cada producto, con su eventual sinonimia. Se señala también el peso molecular, los caracteres generales, en particular las solubilidades, y para evitar los errores, se indican métodos simples de identificación.

Cada monografía indica las investigaciones a efectuar para detectar y dosificar las impurezas y sus límites admisibles. En algunos casos se fijan los límites:

- el selenio, el arsénico, los metales pesados, etc., con el fin de impedir que los productos enológicos, tomando en cuenta la dosis máxima de su empleo, puedan tener un efecto tóxico cualquiera ;
- el hierro, el cobre, el calcio, con el fin de evitar todo efecto que pueda perjudicar la calidad del vino y su aspecto.

En cuanto al contenido de otros productos, tales como los cloruros, el sodio, los sulfatos, etc., se fijan límites amplios, puesto que estos productos no son tóxicos y los vinos los contienen naturalmente en cantidades superiores a las que aportan eventualmente los productos enológicos.

Nota general: las solubilidades son, salvo indicación contraria, expresados 20°C en gramos de solvente por un gramo de producto.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Indice

Capítulo I: Productos utilizados en enología

Edición 2006 (páginas blancas)

Monografía	Adopción	Nombre de la ficha
Ácidos lácticos	OENO 29/2004	ES-COEI-1-ACILAC
Ácidos málicos	OENO 30/2004	ES-COEI-1-ACIMAL
Ácidos Algínicos	OENO 6/2005	ES-COEI-1-ACALGI
Alcohol rectificado de origen agrícola	OENO 11/2000	ES-COEI-1-ALCAGR
Alcohol rectificado de origen vitivinícola	OENO 12/2000	ES-COEI-1-ALCVIT
Amonio (cloruro)	OENO 13/2000	ES-COEI-1-AMOCHL
Amonio (hidrógeno fosfato)	OENO 15/2000	ES-COEI-1-FOSDIA
Amonio (hidrógeno sulfito)	OENO 14/2000	ES-COEI-1-AMHISU
Amonio (sulfato)	OENO 16/2000	ES-COEI-1-AMOSUL
Antiespumante (mono y di glicéridos de ácidos grasos)	OENO 17/2000	ES-COEI-1-ANSPUM
Argón	OENO 31/2004	ES-COEI-1-ARGON
Ascórbico (ácido)	OENO 18/2000	ES-COEI-1-ASCACI
Azúcar de uva	OENO 47/2000	ES-COEI-1-SUCRAI
Azufre (Dióxido)	OENO 46/2000	ES-COEI-1-AZUDIO
Bacterias lácticas	OENO 15/2003	ES-COEI-1-BACLAC
Bentonitas	OENO 11/2003	ES-COEI-1-BENTON
Calcio (carbonato)	OENO 20/2000	ES-COEI-1-CALCAR
Calcio (fitato)	OENO 21/2000	ES-COEI-1-CALPHY
Calcio (tartrato)	OENO 22/2000	ES-COEI-1-CALTAR
Caolín	OENO 28/2000	ES-COEI-1-CAOLIN
Caramelo	OENO 20/2004	ES-COEI-1-CARAME
Caseínas	OENO 12/2003	ES-COEI-1-CASEIN
Celulosa	OENO 08/2002	ES-COEI-1-CELULO
Celulosa microcristalina	OENO 09/2002	ES-COEI-1-CELMIC
Cítrico (ácido), monohidrato	OENO 23/2000	ES-COEI-1-CITACI
Cobre (sulfato), pentahidrato	OENO 25/2000	ES-COEI-1-COBSUL
Cola de pescado	OENO 24/2000	ES-COEI-1-COLPES
Diatomita	OENO 10/2002	ES-COEI-1-DIATOM
Dicarbonato de dimetilo (DMDC)	OENO 25/2004	ES-COEI-1-DICDIM
Dióxido de carbono	OENO 26/2000	ES-COEI-1-DIOCAR
Gelatina	OENO 13/2003	ES-COEI-1-GELATI
Goma arábica	OENO 27/2000	ES-COEI-1-GOMARA
Huevo (albúmina)	OENO 32/2000	ES-COEI-1-HUEALB
Levaduras secas activas	OENO 16/2003	ES-COEI-1-LEVSAC
Lisozima	OENO 15/2001	ES-COEI-1-LISOZY
Trozos de madera roble	OENO 3/2005	ES-COEI-1-MADTRO
Maderas de los recipientes	OENO 4/2005	ES-COEI-1-MADREC
Manoproteínas de levaduras	OENO 26/2004	ES-COEI-1-MANPRO
Materias proteicas de origen vegetal	OENO 28/2004	ES-COEI-1-PROVEG
Membranas de electrodiálisis	OENO 29/2000	ES-COEI-1-MEMELE
Membranas de osmosis inversa	OENO 30/2000	ES-COEI-1-MEMOSM
Metatártarico (ácido)	OENO 31/2000	ES-COEI-1-METACI
Nitrógeno	OENO 19/2000	ES-COEI-1-NITROG
Oxígeno	OENO 32/2004	ES-COEI-1-OXIGEN

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Indice

Perlita	OENO 10/2003	ES-COEI-1-PERLIT
Polivinilpirrolidona	OENO 11/2002	ES-COEI-1-PVPP
Potasio (alginato)	OENO 33/2000	ES-COEI-1-POTALG
Potasio (anhidrosulfito)	OENO 34/2000	ES-COEI-1-POTANH
Potasio (caseinato)	OENO 35/2000	ES-COEI-1-POTCAS
Potasio (D,L-tartrato)	OENO 42/2000	ES-COEI-1-POTRAC
Potasio (hexacianoferrato (II))	OENO 36/2000	ES-COEI-1-POTFER
Potasio (hidrogenocarbonato)	OENO 37/2000	ES-COEI-1-POTBIC
Potasio (hidrogenosulfito)	OENO 38/2000	ES-COEI-1-POTBIS
Potasio (hidrógenotartrato)	OENO 39/2000	ES-COEI-1-POTBIT
Potasio (L-tartrato)	OENO 41/2000	ES-COEI-1-POTTAR
Potasio (sorbato)	OENO 40/2000	ES-COEI-1-POTSOR
Preparaciones enzimáticas	OENO 14/2003	ES-COEI-1-PREENZ
Resinas intercambiadoras de cationes	OENO 43/2000	ES-COEI-1-RESICA
Solución coloidal de dióxido de silicio	OENO 44/2000	ES-COEI-1-DIOSIL
Sorbico (ácido)	OENO 45/2000	ES-COEI-1-SORACI
Taninos enológicos	OENO 12/2002	ES-COEI-1-TANINS
Tartárico (ácido D-L)	OENO 48/2000	ES-COEI-1-DLTART
Tartárico (ácido L(+))	OENO 49/2000	ES-COEI-1-LTARAC
Tiamina (clorhidrato)	OENO 50/2000	ES-COEI-1-THIAMIN
Ureasa	OENO 5/2005	ES-COEI-1-UREASA

Capítulo I:

Recordatorio – monografías en vías de revisión (páginas verdes)

Monografía	Adopción	Nombre de la ficha
Carbón animal purificado	Edición 1978	F-COEI-V-1-CHARAN
Carbón activado	Edición 1978	F-COEI-V-1-CHARAC
Cortezas de levaduras	OENO 4/1987	F-COEI-V-1-ECOLEV
Sodio (Alginato de)	Edición 1978	F-COEI-V-1-SODALG
Sodio (cloruro de)	Edición 1978	F-COEI-V-1-SODCHL
Sodio (monosulfuro de)	Edición 1978	F-COEI-V-1-SODMON

Capítulo II: Técnicas analíticas y de control

Título	Adopción	Nombre de la ficha
5-(hidroximetil)furfural	OENO 18/2003	ES-COEI-2-HMF
Arsénico	OENO 18/2003	ES-COEI-2-ARSENI
Azúcar	OENO 18/2003	ES-COEI-2-AZUCA
Benzo[a]pireno	OENO 18/2003	ES-COEI-2-HIDCAR
Bromo - índice	OENO 18/2003	ES-COEI-2-IBROMO
Cadmio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CADMIO
Calcio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CALCIO
Cenizas sulfúricas – cenizas totales	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CENIZA
Cloruros	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CLORUR
Cobre	OENO 18/2003	ES-COEI-2-COBRE

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Indice

Control bacteriológico	OENO 17/2003	ES-COEI-2-CONBAC
Control de los gases	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CONGAS
Cromo	OENO 18/2003	ES-COEI-2-CROMO
Hierro	OENO 18/2003	ES-COEI-2-HIERRO
Mercurio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-MERCUR
Metales pesados	OENO 18/2003	ES-COEI-2-METPES
Mineralización	OENO 18/2003	ES-COEI-2-MINERA
Níquel	OENO 18/2003	ES-COEI-2-NICKEL
Nitrógeno total	OENO 18/2003	ES-COEI-2-NITTOT
Plomo	OENO 18/2003	ES-COEI-2-PLOMO
Potasio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-POTASI
Selenio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-SELENI
Sodio	OENO 18/2003	ES-COEI-2-SODIO
Sulfatos	OENO 18/2003	ES-COEI-2-SULFAT
Tantalización de las Plataformas	OENO 18/2003	ES-COEI-2-TANTAL
Zinc	OENO 18/2003	ES-COEI-2-ZINC

Capítulo III: Reactivos y soluciones tituladas

Título	Adopción	Nombre de la ficha
Reactivos y soluciones tituladas	OENO 19/2003	ES-COEI-3-REASOL

Capítulo I
Productos
utilizados en enología

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Ácidos lácticos

ACIDO L- LACTICO, ACIDO D-LACTICO, ACIDO D,L-LACTICO

Acido 2-hidróxiopropanoico

N° SIN : 270

C.A.S. número 50-21-5

(L-: 79-33-4; D-: 10326-41-7; DL-: 598-82-3)

fórmula química C₃H₆O₃

Masa molecular: 90,08, densidad 1,20-1,21.

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Acido de origen natural obtenido por la fermentación láctica de los azúcares o elaborado sintéticamente; puede contener productos de condensación tales como el lactato del ácido láctico y del D,L-láctico.

Se utiliza para la acidificación de los mostos y de los vinos en las condiciones establecidas por la reglamentación.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar de manera particularmente clara que se trata de ácido L-láctico o D-láctico obtenidos por fermentación, o D,L-Láctico obtenido por vía química, las condiciones de conservación y la fecha límite de utilización.

Los productos comunes del comercio son soluciones de 50-90%.

Existen también productos bajo forma sólida que contienen alrededor de un 100-125% de ácido láctico valorable. (nota: el ácido láctico es higroscópico y una vez concentrado por ebullición o por destilación, forma productos de condensación que se hidrolizan en ácido láctico por dilución y por calentamiento en agua)

Índice de pureza: no menos de 95,0% y no más de 105,0% de la concentración marcada.

3. CARACTERISTICAS

Líquido incoloro o ligeramente amarillento y siruposo, de sabor netamente ácido y gusto ligeramente lácteo.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C: muy soluble

Alcohol de 95 % vol: muy soluble

Éter: muy soluble

Insoluble en cloroformo

5. PODER ROTATORIO

Para el ácido L-láctico en solución acuosa de 2,5 g por 100 ml.

$\alpha_{21-22^{\circ}C}^D$ es de 2,6°

Para el ácido D-láctico en solución acuosa de 8 g por 100 ml.

$\alpha_{21-22^{\circ}C}^D$ es de $-2,6^{\circ}$

6. CARACTERES DE IDENTIFICACION

6.1 Caracterización del ácido láctico

En un matraz Erlenmeyer de 100 ml pesar 10 g de ácido láctico, añadir 5 ml de ácido sulfúrico 0,5 M, agitar, añadir 25 ml de permanganato de potasio al 0,33 %, colocar sobre una placa calefactora. Recoger los vapores emanados sobre un papel de filtro impregnado de una solución al 50% vol/vol de morfolina al 20 % et de nitrocianoferrato (II) de potasio al 5 %.

El papel filtro se vuelve de color azul.

6.2 Determinación del ácido láctico total

Valorar el ácido láctico libre con hidróxido de sodio 1 M después de hidrolizar el ácido láctico polimerizado con un exceso de hidróxido de sodio determinado por retroceso con ácido sulfúrico 0,5 M.

6.3 Color

Comparar el color con los estándares de la escala alfa (estándar de color de platino-cobalto).

6.4 Pureza estereoquímica

El método se basa en la separación por CLAR utilizando una fase quiral de los dos enantiómeros del ácido láctico. El producto ha sido previamente diluido en agua. Pueden igualmente realizarse determinaciones enzimáticas según los métodos que figuran en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos.

7. ENSAYOS

7.1 Preparación de la solución para el ensayo

Para los ensayos de pureza, preparar una solución del 10% m/v de ácido láctico utilizando la concentración indicada.

7.2 Cenizas sulfúricas

A partir de una muestra de 2 g de ácido láctico, determinar las cenizas sulfúricas como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido debe ser inferior o igual a 1 g/kg.

7.3 Cloruros

A 0,5 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). La solución deberá cumplir el ensayo del límite de los cloruros descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en cloruros debe ser inferior a 1 g/kg expresado en ácido clorhídrico.

7.4 Hierro

A 10 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R). La coloración roja obtenida no deberá ser más intensa que la de un testigo preparado con 1 ml de una solución de sal de hierro (III) de 0,010 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y las mismas cantidades de los mismos reactivos

El contenido debe ser inferior a 10 mg/kg.

El hierro puede ser determinado igualmente por espectrometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional

7.5 Plomo

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), aplicar el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

7.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.7 Cadmio

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.8 Arsénico

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

7.9 Sulfatos

A 1 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 18 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 2 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). La solución deberá cumplir el ensayo de límite de los sulfatos descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en sulfatos debe ser inferior a 1 g/kg, expresado en ácido sulfúrico.

7.10 Cianuros

En un matraz aforado de 40 ml conteniendo 25 ml de agua destilada y 2,5 ml de solución tampón de pH 7,5 (R), introducir 0,4 ml de la solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 0,3 ml de solución de cloramina T al 0,1 p. 100 (R). Esperar 90 segundos y añadir 6 ml de reactivo piridín-pirazolona (R). Completar a 40 ml con agua destilada y mezclar. La coloración obtenida no debe ser más intensa que la obtenida tratando de la misma manera 4 ml de una solución recién preparada de cianuro de potasio valorando 1 mg de ácido cianhídrico por litro (R).

El contenido en cianuros libres expresado en ácido cianhídrico debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.11 Acido cítrico

A 5 ml de la solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 5 ml de agua, 2 ml de solución de sulfato de mercurio(II) (R), llevar a ebullición y añadir algunas gotas de la solución de permanganato de potasio al 2 p. 100 (R). No debe formarse ningún precipitado blanco.

7.12 Ácidos cítrico, oxálico, tártrico, fosfórico

Diluir 1 ml de solución preparada para el ensayo (7.1) en 10 ml de agua, añadir 40 ml de una solución de hidróxido de calcio (R), llevar a ebullición durante 2 minutos. No debe producirse turbidez.

7.13 Azúcares

Añadir 2 ml de solución preparada para el ensayo (7.1) a 10 ml de reactivo cupro-alkalino (R). No debe formarse ningún precipitado rojo.

8. CONSERVACION

El ácido láctico debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados, al abrigo de la luz y del calor.

ACIDO L-MALICO, ACIDO D,L-MALICO

Acido 2-hidroxibutanodioico

N° SIN : 296

C.A.S. número 617-48-1

Fórmula química C₄H₆O₅

Masa molecular : 134.09

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Acido de origen natural contenido en la mayor parte de las frutas (se trata entonces del ácido L-málico) o elaborado sintéticamente: D,L-málico
Se utiliza para la acidificación de los mostos y de los vinos en las condiciones fijadas por la reglamentación.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar de manera muy clara que se trata de ácido L-málico o D,L-málico, las condiciones de conservación, la fecha límite de utilización.

El contenido de ácido málico debe ser de al menos 99 %.

3. CARACTERISTICAS

Polvo cristalino o granulado de color blanco o casi blanco, de sabor netamente ácido.

Punto de fusión del D,L-málico :127-132 °C

Punto de fusión del L-málico:100 °C.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C: 55,8 g/100 ml

Alcohol a 95 % vol. :45.5 g/100. ml

Eter : 0.84 g/ 100 ml

5. PODER ROTATORIO

Para el ácido L-Málico en solución acuosa de 8,5 g por 100 ml.

$$\alpha_{20^{\circ}C}^D : - 2,3^{\circ}$$

6. CARACTERES DE IDENTIDAD

6.1 Caracterización del ácido málico

El ácido málico puede determinarse por vía enzimática según los métodos que figuran en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos (específicamente los ácidos L-málico y D-málico).

El ácido málico puede igualmente ser determinado por CLAR según el método que figura en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos.

7. ENSAYOS

7.1 Preparación de la solución para el ensayo

Para los ensayos de pureza, preparar una solución que contenga 10% m/v de ácido málico.

7.2 Cenizas sulfúricas

A partir de una muestra de 2 g de ácido málico, determinar las cenizas sulfúricas como se indica en el capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido debe ser igual o inferior a 1 g/kg.

7.3 Cloruros

A 0,5 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). La solución deberá cumplir el ensayo límite de cloruros, descrito en el capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 1 g/kg expresado en ácido clorhídrico.

7.4 Hierro

A 10 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R). La coloración roja no deberá ser más intensa que la de un testigo preparado con 1 ml de una solución de sal de hierro(III) de 0,010 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y las mismas cantidades de los mismos reactivos.

El contenido debe ser inferior a 10 mg/kg.

El hierro puede igualmente ser determinado por espectrometría de absorción atómica, según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

7.5 Plomo

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el plomo según el método descrito en el en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

7.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el mercurio según el método descrito en el capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.7 Cadmio

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1), determinar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.8 Arsénico

Sobre la solución preparada para el ensayo (7.1 determinar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

7.9 Sulfatos

A 1 ml de solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 18 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 2 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). La solución deberá cumplir el ensayo del límite de sulfatos descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en sulfatos debe ser inferior a 1 g/kg, expresado en ácido sulfúrico.

7.10 Cianuros

En un matraz aforado de 40 ml conteniendo 25 ml de agua destilada y 2,5 ml de solución tampón de pH 7,5 (R), introducir 0,4 ml de la solución preparada para el ensayo (7.1), añadir 0,3 ml de solución de cloramina T al 0,1 p. 100 (R). Esperar 90 segundos y añadir 6 ml de reactivo piridín-pirazolona (R). Completar a 40 ml con agua destilada y mezclar. La coloración obtenida no debe ser más intensa que la obtenida tratando de la misma manera 4 ml de una solución recientemente preparada de cianuro de potasio de 1 mg de ácido cianhídrico por litro (R).

El contenido en cianuros libres expresado en ácido cianhídrico debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.11 Azúcares

Añadir 2 ml de la solución preparada para el ensayo (7.1) a 10 ml de reactivo cupro-alcálico (R) no se forma ningún precipitado rojo.

7.12 Ácidos fumárico y maleico

Contenido límite de ácido fumárico: 1% en peso.

Contenido límite de ácido maleico: 0.05% en peso. Estos ácidos se determinan por CLAR según el método descrito en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos, de la misma manera que los ácidos málico y tártrico.

8 . CONSERVACION

El ácido málico debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados al abrigo de la luz y del calor.

ÁCIDO ALGÍNICO
Nº sin 400
Nº C.A.S.: 9005-32-7
(Eno 6/2005)

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El ácido algínico es un polisacárido coloidal extraído de diversas variedades de algas pardas, en particular de la Laminaria. Tiene como monómeros constitutivos los ácidos α -L-glucurónico y β -D-manurónico ligados por pares mediante enlaces de tipo 1→4



Es un agente clarificante que, tras haber sido neutralizado antes de su uso con cloruro de potasio o con carbonato de potasio o con hidrógeno-carbonato de potasio puede entrar en el licor de tiraje destinado a efectuar la segunda fermentación de los vinos espumosos (formación de espuma).

El ácido algínico está formado, en promedio, por 200 unidades básicas de ácidos urónicos. Tiene un peso molecular comprendido entre 10.000 y 600.000 U.

2. ETIQUETADO

La concentración del ácido algínico debe indicarse en la etiqueta, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

El ácido algínico se presenta en polvo, filamentos o granulados de color blanco amarillento a pardo, amorfo, insoluble en agua pura y en los diferentes solventes orgánicos. Puede disolverse en agua alcalinizada con carbonato de sodio, hidróxido de sodio o fosfato trisódico.

4. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 4.1 pH** Una suspensión de ácido algínico de 3 % en agua presenta un pH comprendido entre 2 y 3,5.

4.2 Diferenciación respecto a otros polisacáridos

Una solución de ácido algínico de 5 g/l en hidróxido de sodio (disolver 4,3 g de hidróxido de sodio en agua y completar a 100 ml) precipita en forma gelatinosa por adición de un quinto de volumen de una solución de cloruro de calcio de 2,5 %.

Por otra parte, la adición de medio volumen de una solución saturada de sulfato de amonio en la solución anteriormente descrita no provoca ningún enturbiado.

Estas dos pruebas permiten diferenciar el ácido algínico de los demás polisacáridos naturales que pueden utilizarse en los productos alimentarios o farmacéuticos.

4.3 Características organolépticas

El ácido algínico no debe presentar sabor ni un olor anormal

5. ENSAYOS

Todos los límites descritos a continuación hacen referencia al peso en seco del ácido algínico.

5.1 Insoluble en una solución de hidróxido de sodio

Disolver por agitación magnética prolongada 1 g de ácido algínico pesado con precisión en 100 ml de una solución de hidróxido de sodio (disolver 4,3 g de hidróxido de sodio en agua y completar a 100 ml) centrifugar, decantar, lavar el fondo con agua destilada 5 veces, cada vez con centrifugación y eliminación del agua de lavado. Transferir el fondo en su totalidad mediante agua destilada a un filtro de Gooch previamente tarado (filtro de vidrio sinterizado de baja porosidad), dejar secar 1 hora a 105 °C y pesar de nuevo.

El nivel de insolubles no debe superar el 2 % respecto al peso en seco del ácido algínico.

5.2 Pérdida en el secado

La pérdida de peso a 100-105°C del ácido algínico, determinada hasta el peso constante en una toma de ensayo de 2 g, debe ser inferior al 15 %.

5.3 Cenizas sulfúricas

Proceder tal como se describe en el capítulo II del Codex enológico internacional. El nivel de cenizas sulfúricas no debe superar el 8% del peso del ácido algínico.

5.4 Preparación de la solución para ensayos

Después de pesar las cenizas disolverlas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y añadir agua hasta obtener un volumen igual a 25 veces el peso del ácido algínico en seco. 1 ml de esta solución contiene los materiales minerales de 0,04 g de ácido algínico seco.

5.5 Plomo

En la solución preparada para ensayos (5.4), efectuar la dosificación del plomo según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

5.6 Cadmio

En la solución preparada para ensayos (5.4), efectuar la dosificación del cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido de cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.7 Mercurio

Efectuar la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.8 Arsénico

En la solución preparada para ensayos (5.4), efectuar la dosificación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

5.9 Control bacteriológico

Para cada parámetro proceder como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Límite: microorganismos viables totales: menos de 5×10^3 UFC/g.

5.10 Coliformes

El número de coliformes debe ser inferior o igual a 1 por g.

5.11 Estafilococos

El número en estafilococos (β -hemolíticos con coagulasa positiva) debe ser inferior o igual a 1 por g.

5.12 Salmonelas

El número de salmonelas debe ser inferior a 1 por 100 g.

5.13 Levaduras

Contenido límite: 5×10^2 UFC por g de preparación.

5.14 Bacterias lácticas

Contenido límite: 10^2 UFC por g de preparación.

5.15 *Lactobacillus sp.*

Contenido límite: 10 UFC por g de preparación.

5.16 *Pediococcus sp.*

Contenido límite: ausencia en una muestra de 10 g de preparación.

5.17 Bacterias acéticas

Contenido límite: 10^3 UFC por g de preparación.

5.18 Mohos

Contenido límite: 5×10^2 UFC por g de preparación.

6. CONSERVACIÓN

El ácido algínico debe conservarse en bolsas impermeables.

ALCOHOL RECTIFICADO DE ORIGEN AGRÍCOLA
(Oeno 11/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Alcohol rectificado o “neutro” obtenido por destilación y rectificación a partir de vino, lías de vino o de los productos de fermentación alcohólica del orujo de uva, o de uvas pasas, o de cualquier otra materia prima vegetal agrícola.

El alcohol rectificado de origen agrícola entra en la composición de determinadas bebidas espirituosas y vinos especiales.

2. COMPOSICIÓN

A la temperatura de 20°C, 100 volúmenes de este alcohol contienen, al menos, 96 volúmenes de etanol.

Observación: Los controles y ensayos descritos a continuación en cursiva no son obligatorios, no se realizarán más que por petición expresa.

3. CARACTERÍSTICAS

Líquido incoloro, límpido, completamente volátil, de olor penetrante, de sabor ardiente.

Es inflamable, y se quema sin humos con una llama azul.

Debe destilar, en su totalidad, entre 70 y 73°C.

3.1 Solubilidad

El alcohol neutro es miscible con agua, en cualquier proporción, con desprendimiento sensible de calor y contracción de volumen. Es miscible igualmente con acetona, cloroformo, éter etílico, glicerina y volúmenes iguales de aceite de ricino.

3.2 Caracterización

- Calentar ligeramente en un tubo de ensayo una mezcla de 1 ml de alcohol neutro, veinte gotas de ácido sulfúrico concentrado (R) y 10 g de acetato de sodio (R), se desprende un olor característico de acetato de etilo.
- Mezclar algunas gotas de alcohol con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), añadir algunas gotas de solución de dicromato potásico al 10% (R), el líquido se vuelve verde y se desprende un olor característico a etanol.

- Diluir 0,5 ml de alcohol con 4,5 ml de agua. Añadir 1 ml de solución 1 M de hidróxido de sodio y, a continuación, lentamente 2 ml de solución de yoduro de potasio yodado (R). Se desarrolla un olor a yodoformo, seguido de la formación de un precipitado amarillo.

3.3 Caracterización del origen agrícola

Esta determinación se efectuará mediante la medida de la relación $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ (centelleo) del etanol, de acuerdo con el método descrito en el "Recueil" de Bebidas espirituosas.

4. ENSAYOS

4.1 Aspecto

Tomar dos probetas idénticas de vidrio blanco de, aproximadamente, 250 mm de altura, llenar una de alcohol y otra de agua, sirviendo esta última de testigo. Examinar los líquidos siguiendo el eje de los cilindros, el alcohol no deberá presentar coloración apreciable.

En una probeta o en un tubo de, aproximadamente, 250 mm de altura y 25 mm de diámetro, verter 40 ml de alcohol, diluirlos con 80 ml de agua, la mezcla no deberá presentar ni turbidez, ni olor, ni sabor extraños.

4.2 Materias olorosas extrañas

Dejar evaporar espontáneamente 10 ml de alcohol sobre una banda de papel de filtro blanco, no se deberá percibir ningún olor extraño, ni en el curso, ni al final de la evaporación.

4.3 Extracto seco o residuo no volátil

En una cápsula tarada de 25 ml, calentada a 100°C al Baño María, evaporar poco a poco 100 ml de alcohol. Pesar. El extracto seco debe ser inferior a 1,5 g/hl de etanol al 100% vol.

4.4 Metales pesados.

Recoger mediante 10 ml de ácido clorhídrico diluido (R) el residuo eventual dejado en la evaporación de los 100 ml de alcohol, utilizados en la determinación del extracto seco; después de calentar algunos minutos al Baño María a 100°C, con el fin de favorecer la disolución del residuo, transvasar la solución ácida a un matraz aforado de 25 ml., lavando la cápsula tres veces con 5 ml de agua, y enrasando a 25 ml. Tomar 5 ml de esta solución en un tubo de ensayo. Añadir 2 ml de solución tampón pH 3.5 (R), 7,5 ml de agua y 1,2 ml del reactivo de tioacetamida (R). La solución no deberá presentar ni precipitado blanco, ni negro, ni coloración marrón o, al menos, ésta no deberá ser más intensa que la prevista en el método general (contenido en metales pesados expresados en plomo, después de concentración del alcohol a la mitad 0,5 mg/l).

4.5 Plomo

Sobre la solución obtenida en el párrafo 4.4 efectuar la medida del plomo de acuerdo con el método del "Recueil" (contenido en plomo inferior a 0,5 mg/l).

4.6 Mercurio

Sobre la solución obtenida en el párrafo 4.4 efectuar la media del mercurio, de acuerdo con el método descrito en el anexo (contenido en mercurio inferior a 0,2 mg/l).

4.7 Arsénico

Sobre la solución obtenida en el párrafo 4.4 efectuar la media del arsénico de acuerdo con el método descrito en el anexo (contenido en arsénico inferior a 0,5 mg/l después de haber concentrado el alcohol a la mitad)

4.8 Cetonas, propan-2-ol y 2-metilpropan-1-ol

A 1 ml de alcohol, añadir 3 ml de agua y 10 ml de solución de sulfato de mercurio (II) (R), calentar al Baño María a 100°C. No se deberá formar ningún precipitado dentro de los 3 minutos siguientes.

4.9 Tiempo de decoloración del permanganato (Ensayo de Barbet)

En un erlenmeyer, introducir 50 ml de la muestra de alcohol, añadir 2 ml de la solución de permanganato de potasio de 0,20 g/l (R) recientemente preparada, colocar el recipiente en un baño de agua a 15°C y poner en marcha al tiempo un cronómetro. Evitar, durante el ensayo, la exposición directa de la muestra a la luz natural o artificial.

Colocar simultáneamente en el baño de agua a 15°C, 50 ml de la solución de comparación obtenida mezclando 3 ml de solución de cloruro de cobalto al 5 p. 100 (R), 4,2 ml de solución de nitrato de uranilo al 4 p. 100 (R) y completando a 50 ml con agua destilada, y comparar el color del ensayo al de la solución patrón. Parar el cronómetro cuando sean idénticas. Anotar el tiempo transcurrido. El tiempo de decoloración del permanganato deberá ser superior o igual a 20 minutos.

4.10 Derivados azufrados

Introducir en un tubo de ensayo aproximadamente 1 ml de mercurio, seguido de 20 ml de alcohol. Agitar durante 1 o 2 minutos. La superficie del mercurio debe mantenerse brillante sin que aparezca un velo negruzco.

4.11 Metanol

4.11.1 Determinación colorimétrica

Solución patrón: en un matraz aforado de 50 ml, pesar 5 g de metanol y enrasar con etanol (exento de metanol).

En un matraz aforado de 1 litro, colocar 1 g de la solución anterior (1,25 ml) que contiene 125 mg de metanol, 250 ml de alcohol absoluto (exento de metanol) y enrasar con agua.

Técnica del ensayo: en un matraz aforado de 50 ml poner $\frac{1250}{A}$ ml de alcohol (siendo A el grado alcohólico del alcohol a ensayar), enrasar con agua. En un tubo de ensayo, colocar 1 ml de este alcohol diluido al 25 p. 100 en volumen, añadir cuatro gotas de ácido fosfórico al 50 p. 100 (m/m) (R), cuatro gotas de solución de permanganato de potasio (R) al 5 p. 100 (m/m), agitar y dejar en reposo 10 mn. Decolorar el permanganato con algunas gotas (generalmente ocho) de solución al 2 p. 100 (m/v) de anhídrosulfito (metabisulfito) de potasio (R), evitando cualquier exceso. Añadir 5 ml de solución sulfúrica de ácido cromotrófico (R). Llevarlo al Baño María a 70°C durante 20 mn. No deberá aparecer una coloración violeta, o esta coloración no deberá ser más intensa que la de una solución testigo preparada con la misma técnica y con los mismos reactivos, con 1 ml de solución patrón indicada arriba (contenido máximo de metanol 50 g/hl expresado en etanol al 100% vol.)

4.11.1 Determinación por cromatografía de gases

Aparatos (a modo de ejemplo):

- Cromatografía de gases con detector de ionización de llama.
- Columnas capilares de tipo semipolar, por ejemplo Carbowax 20 M.

Técnica del ensayo (estas informaciones se dan a modo de ejemplo):

- Preparar una solución hidroalcohólica a 1 g por litro de patrón interno (4-metilpentan-2-ol) en alcohol del 50 p. 100 vol.
- Preparar la solución de análisis añadiendo 5 ml de esta solución a 50 ml de alcohol llevado a 50 p. 100 vol.
- Preparar una solución de referencia de metanol de 100 mg por litro en alcohol de 50 p. 100 vol. Añadir 5 ml de solución de patrón interno a 50 ml de esta solución.
- Inyectar en el cromatógrafo, 2 microlitros de la solución a analizar y de la solución de referencia a las que se les ha añadido patrón interno.
- Temperatura del horno: 90°C y el flujo de gas portador 25 ml por minuto.
- Sea:
 - S: el área del pico de metanol de la solución de referencia.
 - S_x: el área del pico de metanol de la solución a analizar.
 - i: El área del pico del patrón interno de la solución a analizar.
 - I: El área del pico del patrón interno de la solución de referencia.

- El contenido de metanol, expresado en miligramos por litro de alcohol al 50 p. 100 en volumen, está dado por la ecuación:
- Contenido en gramos por hectólitro de alcohol puro: 0,20 C. (Contenido máximo de metanol 50 g/hl expresado en etanol al 100% vol.).

4.12 Hidróxido de amonio y bases nitrogenadas.

En un matraz de 200 ml introducir 50 ml del alcohol a analizar, añadir 40 ml de agua y 2 gotas de ácido fosfórico ($\rho_{20} = 1,58$); destilar y recoger 80 ml, que serán despreciados. Al residuo enfriado añadir 2 ml de solución de hidróxido de sodio al 10 p. 100 (R). Destilar de nuevo, recogiendo aproximadamente 7 ml del destilado en un tubo de ensayo, en los que se han introducido previamente 2 ml de agua y una gota de solución de rojo de metilo (R), el destilado se lleva al fondo del tubo mediante un tubo capilar. Valorar hasta el viraje a rojo del indicador, con una solución 0,01 M de ácido clorhídrico: sea n el número de mililitros de la solución 0,01 M de ácido clorhídrico empleados.

1 ml de ácido clorhídrico 0,01 M corresponde a 0,00014 g de nitrógeno (amoniacoal o de bases nitrogenadas volátiles).

La cantidad de nitrógeno amoniacoal o de bases nitrogenadas, expresadas en miligramos de nitrógeno por litro de etanol es:

Siendo A el grado alcohólico del alcohol examinado.

El alcohol neutro no deberá contener más de 1 mg de nitrógeno (amoniacoal o de bases nitrogenadas volátiles) por litro de etanol.

(Contenido máximo en hidróxido de amonio y bases nitrogenadas expresados en nitrógeno 0,1 g/hl en etanol al 100% vol.).

4.13 Acidez

En un erlenmeyer de 250 ml, poner 100 ml de alcohol llevado al 50 p. 100 vol.; añadir una gota de solución de rojo de fenol (R) y solución de hidróxido de sodio 0,01 M, gota a gota hasta viraje a rojo, sea n el número de ml empleados.

1 ml de solución 0,01 M de hidróxido de sodio corresponde a 0,0006 g de ácido acético.

La acidez expresada en miligramos de ácido acético por litro de etanol es igual a $12 n$.

Esta acidez deberá ser inferior a 15 mg/l de etanol (1,5 g/hl) en el momento de la entrega del alcohol.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Alcohol rectificado de origen agrícola

(Contenido máximo en acidez expresada en ácido acético 1,5 g/hl en etanol al 100 % vol.).

Nota: El viraje del indicador a la hora de la determinación de la acidez, deberá ser neto y estable. En caso contrario y, sobre todo si la acidez excede 15 mg/l, se deberá realizar un nuevo ensayo después de desgasificación de la muestra, de acuerdo con la técnica descrita abajo.

100 ml de alcohol llevado a 50 p. 100 vol. se introducen en un matraz de 250 ml, el cual tiene un tapón atravesado por dos tubos.

Uno permite mantener el matraz a vacío con una trompa de agua; el vacío se regula entre 55 y 65 cm de mercurio. El otro permite, en el curso de la operación, barbotar aire exento de gas carbónico, mediante un frasco lavador con sosa; para conseguir esto, el tubo finaliza en un capilar que se introduce en el alcohol. El flujo de aire a través del frasco lavador debe ser aproximadamente de 1 ml por segundo.

La duración de la operación debe estar comprendida entre 3 y 5 minutos. La valoración se efectúa en el mismo matraz.

4.14 Esteres

A la solución preparada para la determinación de la acidez en 4.13 (100 ml de alcohol del 50% vol.), añadir 10 ml exactamente medidos de una solución 0,1 M de hidróxido de sodio; tapar, agitar y mantener a una temperatura igual o ligeramente superior a 20°C.

Después de 24 horas de contacto, valorar el exceso de hidróxido de sodio con una solución 0,1 M de ácido clorhídrico; sea n' el número de mililitros utilizados.

Para medir el volumen de solución 0,1 M de ácido clorhídrico que neutraliza los 10 ml de solución 0,1 M de hidróxido de sodio en presencia de la misma cantidad de alcohol y del mismo indicador cuyo viraje se obtiene mediante pH decrecientes, hacer el siguiente ensayo:

Colocar 100 ml de alcohol llevado al 50 p. 100 desgasificado en un matraz cónico de 250 ml, añadir una gota de solución de rojo de fenol (R) y los n mililitros de solución 0,1 M de hidróxido de sodio que producen el viraje al rojo del indicador. Añadir 10 ml de solución 0,1 M de hidróxido de sodio, e inmediatamente después, la solución 0,1 M de ácido clorhídrico para obtener el mismo viraje del indicador, sea n'' el volumen empleado.

1 ml de solución 0,1 M de hidróxido de sodio corresponde a 0,0088 g de acetato de etilo. La concentración de esteres, expresada en miligramos de acetato de etilo, contenidos en un litro de etanol está dada por la relación:

$$176 (n'' - n')$$

Este valor no deberá ser superior a 13 mg por litro de etanol (es decir 1,3 g/hl) en el momento de la entrega del alcohol.

(Contenido máximo de esteres, expresados como acetato de etilo, 1,3 g/hl en etanol al 100% vol.)

4.15 Aldehidos

Solución patrón: en un matraz aforado de 100 ml, colocar 268,3 mg de acetal puro (Eb.: 102°C) y enrasar con alcohol del 50% vol. exento de aldehidos.

Diluir esta solución 1 a 10 en alcohol del 50 p. 100 vol., exento de aldehidos. La solución obtenida contiene 100 mg de etanal por litro de alcohol del 50 p. 100 vol., es decir 20 gramos en 100 litros de etanol.

Técnica de ensayo: en un tubo de ensayo introducir 10 ml de alcohol llevado al 50 p. 100 vol. En un segundo tubo, poner 5 ml de la solución de 100 mg de etanal por litro de alcohol del 50 p. 100 vol., y 5 ml de alcohol del 50 p. 100 vol., sin aldehidos. Añadir a los dos tubos 4 ml de solución de clorhidrato de rosanilina decolorada mediante el ácido sulfuroso (R), agitar y comparar las coloraciones obtenidas al cabo de 20 minutos.

El alcohol del ensayo debe dar una coloración, como mucho, igual a la coloración de la solución patrón (contenido máximo en aldehidos expresados como etanal 0,5 g/hl en etanol al 100 % vol.).

Nota: Alcohol del 50 p. 100 vol., sin aldehidos: introducir 100 ml de alcohol diluido al 50 p. 100 vol., en un matraz de fondo redondo de 250 ml con 2 g de clorhidrato de metafenilendiamina (R) y dos granos de piedra pómez. Conectar el matraz a un refrigerante de reflujo y mantener una ebullición suave durante una hora. Después de enfriar, conectar el matraz al aparato de destilación y destilar lentamente sin sobrecalentar las paredes. Recoger 75 ml de destilado en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua destilada.

4.16 Alcoholes superiores

Se trata de propan-1-ol; 2 metilpropan-1-ol y del 2-y-3 metilbutan-1-ol.

Determinación por cromatografía de gases (ver metanol).

Contenido máximo en cuanto a la suma de cada uno de los alcoholes: 0,5 g/hl en etanol al 100% vol.

4.17 Furfural

10 ml de alcohol llevado al 50% en vol., se introducen en un tubo con tapón esmerilado.

Añadir 0,5 ml de anilina (R) y 2 ml de ácido acético cristalizante (R). Agitar. No deberá aparecer ninguna coloración rosa salmón perceptible antes de 20 minutos.

5. CONSERVACIÓN

El alcohol debe ser conservado en recipientes inertes que no sean susceptibles de ceder metales, iones, o elementos que formen parte de los materiales plásticos.

Los recipientes deben estar conformes con las normas de seguridad y las condiciones de almacenaje deben asimismo respetar las normas de seguridad.

ALCOHOL RECTIFICADO DE ORIGEN VITIVINÍCOLA
(Oeno 12/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Alcohol obtenido por destilación y rectificación exclusivamente a partir del vino, del orujo de uva, de lías de vino o de uvas secas fermentadas.

El alcohol de origen vitivinícola forma parte de la composición de determinadas bebidas espirituosas y vinos especiales.

2. COMPOSICIÓN

A la temperatura de 20°C, 100 volúmenes de este alcohol contienen, al menos, 96 volúmenes de etanol.

Observación: Los controles y ensayos descritos a continuación en cursiva no son obligatorios, no se realizarán más que en caso de petición expresa.

3. CARACTERÍSTICAS

Líquido incoloro, límpido, completamente volátil, de olor penetrante, de sabor ardiente. Es inflamable y se quema sin humo con una llama azul.

Debe destilar en su totalidad entre 78 y 79°C.

3.1 Solubilidad

El alcohol neutro es miscible con agua, en cualquier proporción, con desprendimiento sensible de calor y contracción de volumen. Es miscible igualmente con acetona, cloroformo, éter etílico, glicerina y volúmenes iguales de aceite de ricino.

3.2 Caracterización

Calentar ligeramente en un tubo de ensayo una mezcla de 1 ml de alcohol neutro, veinte gotas de ácido sulfúrico concentrado (R) y 10 g de acetato de sodio (R), se desprende un olor característico de acetato de etilo.

- Mezclar algunas gotas de alcohol con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), añadir algunas gotas de solución de dicromato potásico al 10% (R), el líquido se vuelve verde y se desprende un olor característico a etanal.

- Diluir 0,5 ml de alcohol con 4,5 ml de agua. Añadir 1 ml de solución 1 M de hidróxido de sodio y, a continuación, lentamente 2 ml de solución de yoduro de potasio yodado (R). Se desarrolla un olor a yodoformo, seguido de la formación de un precipitado amarillo.

3.3 Caracterización del origen vitivinícola

Esta determinación se efectuará mediante la medida de la relación $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ (centelleo) del etanol, de acuerdo con el método descrito en el "Recueil" de Bebidas espirituosas.

- 3.4** Si fuese necesario, el origen vitivinícola del alcohol puede ser determinado por los métodos isotópicos del "Recueil" de Métodos de Análisis de Vinos y de Mostos.

4. ENSAYOS

Los ensayos son idénticos a los del alcohol de origen agrícola rectificado con los contenidos límites siguientes:

4.1 Metanol

Contenido máximo 50 g/hl en etanol a 100 % vol.

4.2 Acidez

Contenido máximo en ácido acético 1,5 g/hl en etanol del 100 % vol.

4.3 Ésteres

Contenido máximo en acetato de etilo 1,3 g/hl en etanol del 100 % vol. (o 5 g/hl).

4.4 Aldehidos

Contenido máximo de etanal 0,5 g/hl en etanol del 100 % vol.

4.5 Alcoholes superiores

Contenido máximo 0,5 g/hl en etanol del 100% vol.

4.6 Preparación de la solución para los ensayos

Recoger mediante 10 ml de ácido clorhídrico diluido (R) el residuo eventual dejado en la evaporación de los 100 ml de alcohol, utilizados en la determinación del extracto seco; después de calentar algunos minutos al Baño María a 100°C, con el fin de favorecer la disolución del residuo, transvasar la solución ácida a un matraz aforado de 25 ml., lavando la cápsula tres veces con 5 ml de agua, y enrasando a 25 ml.

4.7 Metales pesados

Tomar 5 ml de la solución preparada en 4.6 en un tubo de ensayo. Añadir 2 ml de solución tampón pH 3.5 (R), 7,5 ml de agua 1,2 ml del reactivo de tioacetamida (R). La solución no deberá presentar ni precipitado blanco, ni negro, ni coloración marrón o, al menos, ésta no deberá ser más intensa que la prevista en el método general (contenido en metales pesados expresados en plomo, después de concentración del alcohol a la mitad 0,5 mg/l).

4.8 Plomo

Efectuar la determinación del plomo sobre la solución preparada para los ensayos (4.6), de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo menor de 0,5 mg/l).

4.9 Mercurio

Efectuar la determinación del mercurio sobre la solución preparada para los ensayos (4.6), de acuerdo con el método del anexo. (Contenido en mercurio menor de 0,2 mg/l).

4.10 Arsénico

Efectuar la determinación del arsénico sobre la solución preparada para los ensayos (4.6), de acuerdo con el método del anexo. (Contenido en arsénico menor de 0,5 mg/l).

5. CONSERVACIÓN

El alcohol debe ser conservado en recipientes inertes que no sean susceptibles de ceder metales, iones, o elementos que formen parte de los materiales plásticos.

Los recipientes deben estar conformes con las normas de seguridad y las condiciones de almacenaje deben asimismo respetar las normas de seguridad.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (cloruro de)

AMONIO (CLORURO DE)
Clorohidrato de Amoniac
Ammonii Chloridum
NH₄Cl = 53,50
N° SIN: 510
(Oeno 13/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto empleado como activador de la fermentación, reservado a las operaciones fermentarias. Aporta ión amonio directamente asimilable por las levaduras.

Existen límites reglamentarios en cuanto al aporte de ión amonio.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Cl	66,22
NH ₃	31,78
N	28,17

4. CARACTERÍSTICAS

Cristales incoloros, inodoros, de sabor fresco, picante y salado, sublima sin descomposición, inalterable al aire.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	350,8 g/l
Agua a 100°C	758 g/l
Alcohol a 95% vol.	13,3 g/l

6. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

La solución acuosa de cloruro de amonio da las reacciones del ión amonio y las de los cloruros.

7. ENSAYOS

7.1 Cenizas sulfúricas

La cantidad de cenizas sulfúricas del cloruro de amonio, determinadas como se indica en el anexo, no debe ser superior a 0,2 p.100.

7.2 Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución acuosa a partir de cristales de NH_4Cl al 10 p. 100 (m/v).

7.3 Sulfatos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2), añadir 2 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) 17 ml de agua y 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg)

7.4 Nitratos

Mezclar en un tubo de ensayo 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 0,5 ml de solución de sulfato de hierro(II) al 5 p. 100 (m/v) preparada extemporáneamente. Añadir sin mezclar 5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2), no se debe observar ninguna coloración en la superficie de separación de las dos soluciones.

7.5 Fostatos

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2) añadir 5 ml de agua, 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). Dejar en contacto 15 minutos a 20°C. Si aparece una coloración amarilla debe ser inferior a la que se obtiene al añadir a 0,5 ml de una solución de 0,05 g de fósforo por litro (R), 5 ml de agua y 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). (Contenido en fosfatos expresados en fósforo, inferior a 500 mg/kg).

7.6 Hierro

A 5 ml de la solución preparada para ensayos (7.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) una gota de permanganato de potasio al 2 p. 100 y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una solución roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 2,5 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R) y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 50 mg/kg)

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (cloruro de)

7.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) buscar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

7.8 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

7.9 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) buscar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

7.10 Determinación del amoniaco

Diluir a la décima parte la solución preparada para los ensayos (7.2) e introducir 10 ml de esta solución (equivalente a 0,1 g de cloruro de amonio), en un aparato de arrastre de vapor, añadir 10 ml de hidróxido de sodio al 30 % (R) y destilar 100 ml. Cuantificar el amoniaco destilado mediante ácido clorhídrico 0,1 M. Sea **n**, el número de mililitros añadidos:

100 g de cloruro de amonio contienen 1,7 **n** g de amoniaco (NH₃). (Contenido en amoniaco superior a 31,5 p. 100).

7.11 Determinación del ácido clorhídrico

Tomar 10 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2), diluirla 1 a 10 y colocarla en un matraz. Añadir 20 ml de solución de nitrato de plata 0,1 M, 1 ml de ácido nítrico concentrado (R), 5 ml de solución de sulfato de hierro(III) y amoniaco al 10 p. 100 (R). Valorar el exceso de nitrato de plata con una solución de tiocianato de potasio 0,1 M: sean **n** los mililitros añadidos. 100 g de cloruro de amonio contienen 3,65 (20-**n**) g de ácido clorhídrico (HCl). (Contenido en ácido clorhídrico superior al 67,5 p. 100).

8. CONSERVACIÓN

El cloruro de amonio debe ser conservado en recipientes

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
di-AMONIO (Fosfato diamónico)

di-AMONIO (HIDROGENOFOSFATO))
AMONIO (HIDROGENOFOSFATO DE)
Fosfato diamónico
Ammonii phosphas
(NH₄)₂HPO₄ = 132,1
N° SIN: 342
(Oeno 15/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto empleado como activador de la fermentación, reservado a las operaciones fermentarias. Aporta ión amonio directamente asimilable por las levaduras.

Un exceso de fosfato puede provocar una quiebra férrica.

Existen límites reglamentarios en cuanto al aporte de ión amonio.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación ,con una fecha límite de utilización.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

H ₃ PO ₄	74,21
P ₂ O ₅	53,75
NH ₃	25,79

4. CARACTERÍSTICAS

Cristales monoclínicos, incoloros. Esta sal pierde lentamente pequeñas cantidades de amoniaco en contacto con el aire.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	689 g/l
Agua a 100°C	1060 g/l
Alcohol a 95% vol.	Insoluble

6. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 6.1** Preparar una solución al 1 p. 100 (m/v) en agua. La solución presenta un pH cercano a 8, y da una coloración ligeramente rosada con algunas gotas de fenoftaleína (R). A 25°C el pH de esta solución debe estar comprendido entre 7,8 y 8,4.
- 6.2** Esta solución da un precipitado amarillo con el reactivo nitromolíbico (R).
- 6.3** Esta solución calentada con algunas gotas de solución de hidróxido de sodio al 30% (R), desprende amoníaco.

7. ENSAYOS

7.1 Cenizas sulfúricas

La cantidad de cenizas sulfúricas del fosfato diamónico, determinadas como se indica en el anexo, no debe ser superior a 5 g/kg.

7.2 Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución al 10 p. 100 (m/v).

7.3 Cloruros

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2) añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). Después de 15 minutos de reposo en la obscuridad, no se debe observar turbidez o ésta debe ser menor a la del testigo, preparado como se indica en el anexo (contenido en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

7.4 Sulfatos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2), añadir 2 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) 17 ml de agua y 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla no debe precipitar, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg).

7.5 Ácido oxálico

A 5 ml de solución preparada para los ensayos (7.2) añadir 20 gotas de ácido acético (R) y 5 gotas de solución saturada de sulfato de calcio (R). La solución debe permanecer límpida.

7.6 Hierro

A 5 ml de la solución preparada para ensayos (7.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una solución roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 2,5 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R) y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 50 mg/kg)

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

7.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

7.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

7.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

7.10 Determinación del amoniaco

Diluir a la décima parte la solución preparada para los ensayos (7.2) e introducir 10 ml de esta solución (equivalente a 0,1 g de fosfato de amonio), en un aparato de arrastre de vapor (descrito en el anexo), añadir 10 ml de hidróxido de sodio al 30 % (R) y destilar 10 ml. Cuantificar el amoniaco destilado mediante ácido clorhídrico 0,1 M. Sea **n**, el número de mililitros añadidos:

100 g de fosfato de amonio contienen 1,7 **n** g de amoniaco (NH₃).
(Contenido en amoniaco superior a 25 p. 100).

7.11 Determinación del ácido fosfórico

Colocar 25 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2) en un erlenmeyer. Añadir 5 gotas de fenoftaleína (R); la solución se debe colorear de rosa pálido, de lo contrario añadir solución de hidróxido de sodio 0,1 M hasta la aparición incipiente del viraje de este indicador. Añadir 10 gotas de verde de bromocresol (R) y añadir con una bureta ácido sulfúrico 0,5 M hasta el viraje al verde del indicador

Sea **n** ml de volumen utilizado.

Un litro de solución 0,5 M corresponde a 71 g de anhídrido fosfórico o 98 g de ácido fosfórico.

Contenido de fosfato de amonio en g p. 100:

- | | |
|--------------------------|---------------|
| - En anhídrido fosfórico | 2,84 n |
| - En ácido fosfórico | 3,92 n |

El contenido en anhídrido fosfórico debe estar comprendido entre 51,6 y 55 p. 100, y entre 71,5 y 76 p. 100 en ácido fosfórico.

8 CONSERVACIÓN

El fosfato de amonio debe ser conservado en recipientes herméticos y al abrigo del calor y de la humedad.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (hidrógeno sulfito de)

AMONIO (HIDRÓGENO SULFITO DE)
Bisulfito de Amonio
 $\text{NH}_4\text{HSO}_3 = 99,07$
(Oeno 14/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto perteneciente a la categoría de agentes conservantes, reservado a las operaciones fermentarias. Aporta dióxido de azufre e ión amonio directamente asimilable por las levaduras.

Existen límites reglamentarios en cuando al aporte de ión amonio y el contenido de dióxido de azufre.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

NH_3	17,16
SO_2	64,67

4. CARACTERÍSTICAS

El hidrógeno sulfito de amonio se presenta siempre como una solución acuosa. Esta solución libera un olor picante a dióxido de azufre.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 60°C	847 g/l
Alcohol a 95% vol.	ligeramente soluble

6. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

La solución acuosa de hidrógenosulfito de amonio da las reacciones del ión amonio (desprendimiento de amoniaco en presencia de hidróxido sódico en caliente) y del dióxido de azufre (colorea de azul un papel de filtro impregnado de yodato de potasio y de engrudo de almidón).

7. ENSAYOS

7.1 Cenizas sulfúricas

La cantidad de cenizas sulfúricas del hidrógenosulfito de amonio, determinadas como se indica en el anexo, no debe ser superior a 0,2 p.100.

7.2 Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución al 10 p. 100 (m/v).

7.3 Sulfatos

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2), añadir 2 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) 17,5 ml de agua y 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 2 g/kg).

7.4 Hierro

A 5 ml de la solución preparada para ensayos (7.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) una gota de permanganato de potasio al 2 p. 100 y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja, deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 2,5 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R), 2,5 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 50 mg/kg).

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

7.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2), diluida 1 a 20, medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

7.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

7.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (hidrógeno sulfito de)

7.8 Determinaciones del amoniaco

Diluir a la décima parte la solución preparada para los ensayos (7.2) e introducir 10 ml de esta solución (equivalente a 0,1 g de hidrogenosulfito de amonio), en un aparato de arrastre de vapor, añadir 10 ml de hidróxido de sodio al 30 % (R) y destilar 100 ml. Cuantificar el amoniaco destilado mediante ácido clorhídrico 0,1 M. Sea **n**, el número de mililitros añadidos:

100 g de hidrógenosulfito de amonio contienen 1,7 **n** g de amoniaco (NH₃).
(Contenido en amoniaco superior a 16,5 p. 100).

7.9 Determinación del dióxido de azufre

En un matraz de fondo redondo de 200 ml, colocar 50 ml de agua fría, a continuación 5 ml de solución de hidrógenosulfito de amonio para el ensayo (7.2) recientemente preparada y valorar con yodo 0,05 M en presencia de engrudo de almidón. Sea **n** el volumen de yodo utilizado.

Contenido en SO₂ por 100 g: 6,4 . **n**

El hidrógenosulfito de amonio debe contener, al menos, 62 p. 100 de SO₂.

8. CONSERVACIÓN

El hidrógenosulfito de amonio debe ser conservado en recipientes herméticos y al abrigo del calor y del frío.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (sulfato de)

AMONIO (SULFATO DE)
Ammonium sulfuricum
(NH₄)₂SO₄ = 132,10
N° SIN: 517
(Oeno 16/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto empleado como activador de la fermentación, reservado a las operaciones fermentarias. Aporta ión amonio directamente asimilable por las levaduras. Los sulfatos aportados son totalmente solubles en el vino.

Existen límites reglamentarios en cuanto al aporte de ión amonio.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

H ₂ SO ₄	74,22
NH ₃	25,78
SO ₃	60,59
N	21,20

4. CARACTERÍSTICAS

Cristales anhidros, transparentes, de sabor picante y amargo, similares a los cristales de sulfato de potasio, con el que esta sal es isomorfa.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	509 g/l
Agua a 100°C	1040 g/l
Alcohol a 90% vol.	Insoluble
Acetona	Insoluble

6. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

La solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) de esta sal presenta un pH cercano a 5,5. Esta solución da las reacciones del ión amonio y la de los sulfatos.

7. ENSAYOS

7.1 Cenizas sulfúricas

La cantidad de cenizas sulfúricas del sulfato de amonio, determinadas como se indica en el anexo, sobre una alícuota de 1 g, no debe ser superior a 5 g/kg.

7.2 Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución al 10 p. 100 (m/v).

7.3 Cloruros

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2) añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). Después de 15 minutos de reposo en la obscuridad, no se debe observar turbidez o ésta debe ser menor a la del testigo, preparado como se indica en el anexo (contenido en cloruros expresados en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

7.4 Fosfatos

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.2) añadir 5 ml de agua, 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). Dejar en contacto 15 minutos a 20°C. Si aparece una coloración amarilla debe ser inferior a la que se obtiene al añadir a 0,5 ml de una solución de 0,05 g de fósforo por litro (R), 5 ml de agua y 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). (Contenido en fosfatos expresados en fósforo, inferior a 500 mg/kg).

7.5 Nitratos

Mezclar en un tubo de ensayo 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 0,5 ml de solución de sulfato de hierro(II) al 5 p. 100 (m/v) preparada extemporáneamente. Añadir sin mezclar 5 ml de una solución obtenida disolviendo 2 g de sulfato de amonio en 10 ml de agua, no se debe observar ninguna coloración en la superficie de separación de las dos soluciones.

7.6 Hierro

A 5 ml de la solución preparada para ensayos (7.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) una gota de permanganato de potasio al 2 p. 100 y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 2,5 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R), 2,5 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 50 mg/kg).

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Amonio (sulfato de)

7.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

7.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) buscar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

7.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.2) buscar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en arsénico inferior a 3 mg/kg).

7.10 Determinación del amoniaco

Diluir a la décima parte la solución preparada para los ensayos (7.2) e introducir 10 ml de esta solución (equivalente a 0,1 g de sulfato de amonio), en un aparato de arrastre de vapor, añadir 20 ml de hidróxido de sodio al 30 % (R) y destilar 100 ml. Cuantificar el amoniaco destilado mediante ácido clorhídrico 0,1 M. Sea **n**, el número de mililitros añadidos:

100 g de sulfato de amonio contienen 1,7 **n** g de amoniaco (NH₃).
(Contenido en amoniaco superior a 25 p. 100).

7.11 Determinación del ácido sulfúrico

Diluir 1 a 10 la solución preparada para ensayos (7.2), tomar 25 ml y añadir 75 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R); llevar a ebullición y añadir lentamente 1 ligero exceso de solución de cloruro de bario (R). Dejar que se forme precipitado durante 30 minutos en un baño de agua a 100°C. Recoger el precipitado, lavarlo, calcinarlo en una mufla a 600°C y pesarlo. Sea **p** el peso de precipitado de sulfato de bario:

100 g de sulfato de amonio contienen 16,80 **p** g de ácido sulfúrico (H₂SO₄).
(Contenido en ácido sulfúrico superior a 73,5 p. 100)

8. CONSERVACIÓN

El sulfato de amonio debe ser conservado en recipientes herméticos y al abrigo del calor y de la humedad.

**ANTIESPUMANTE
(MONO Y DIGLICÉRIDOS DE ÁCIDOS GRASOS)
Nº SIN: 471
(Oeno 17/2000)**

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN.

Se llaman mono y diglicéridos a la mezcla de mono y diésteres glicéricos de los ácidos grasos –con una pequeña cantidad de triésteres- y de ácidos grasos de aceites y grasas alimentarias. La mezcla de mono y diglicéridos utilizada como antiespumante está esencialmente constituida por ésteres del ácido oléico.

El producto así definido puede contener pequeñas cantidades de ácidos grasos y de glicerol libre. Su utilización en condiciones tecnológicas apropiadas no deja trazas medibles en el vino después del filtrado.

2. ETIQUETADO.

El etiquetado debe indicar la composición en mono y diglicéridos de la preparación, las condiciones de conservación y de seguridad, así como la fecha límite de utilización.

3. CARACTERÍSTICAS.

El producto se presenta bien en forma de líquido aceitoso de color amarillo paja, bien como producto pastoso de color marfil, bien como sólido cereo duro de color blanco o blanco crema, con olor y gusto agradables. La forma sólida puede presentarse en forma de copos, polvo o pequeños gránulos.

El producto utilizado como antiespumante es generalmente líquido a temperatura ordinaria pero puede enturbiarse a baja temperatura.

4. SOLUBILIDAD.

Insoluble en agua.

Soluble en etanol, cloroformo y benceno.

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD.

5.1 Hidrólisis de la muestra

Tratar a reflujo 1 g de muestra con una solución 0,5 M de hidróxido de potasio durante 1 h. Añadir 15 ml de agua, acidificar

con ácido clorhídrico diluido al 30% (v/v) (R) (alrededor de 4 a 5 ml). Se forman gotas aceitosas o un precipitado blanco a blanco amarillento. Extraer los ácidos grasos liberados con 5 ml de hexano, separar el solvente. Repetir la extracción con 5 ml de hexano y reunir los dos extractos.

Reservar la fase acuosa.

5.2 Caracterización de los ácidos grasos en el extracto orgánico por cromatografía en fase gaseosa.

A título de ejemplo, es posible utilizar una columna semipolar de tipo Carbowax 20M ®, 25 m x 0,32 mm x 0,25 µm de espesor de fase.

5.3 Caracterización del glicerol.

Introducir 5 ml de la fase acuosa en un tubo de ensayo. Añadir un exceso de hidróxido de calcio en polvo y colocar el tubo en agua hirviendo durante 5 min., agitando de vez en cuando, enfriar y filtrar.

Poner una gota del filtrado en un tubo de ensayo y añadir alrededor de 50 mg de hidrogenosulfato de potasio. Colocar en el extremo del tubo un papel de filtro embebido del reactivo obtenido mezclando extemporáneamente volumen a volumen una solución de nitrosopentacianoferrato de sodio (R') y de piperidina (F'). Calentar con ayuda de una pequeña llama. Una coloración azul de papel reactivo indica la presencia de acroleína.

La coloración vira al rojo por adición de hidróxido de sodio 1 M.

Nota Es también posible caracterizar el glicerol por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) utilizando por ejemplo una columna de sílice enlazada con grupos-NH₂, una fase móvil agua / acetonitrilo, 20:80, v/v, y un detector refractométrico.

6. ENSAYOS.

6.1 Pérdida por desecación a 100° C.

Pesar exactamente un peso próximo a 5 g del producto a analizar en un cristalizador de vidrio de 70 mm de diámetro, previamente

secado en estufa regulada a 103° C, manteniéndolo durante 30 min., sacar el cristizador, dejando enfriar en el desecador y pesar. Meter de nuevo la muestra 30 mn. en la estufa y pesar después de enfriar. La pérdida en la estufa se termina cuando la disminución de peso no sobrepase el 0,05 % por media hora de calefacción.

La pérdida por desecación a 100° C debe ser inferior al 2 p. 100.

6.2 Cenizas sulfúricas

Las cenizas sulfúricas se determinan como se indica en el anexo, sobre una toma de ensayo de 5 g, el peso debe ser inferior a 2 g/kg.

6.3 Arsénico

Determinado como se indica en el anexo, sobre una toma de ensayo de 5 g, el arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

6.4 Metales pesados

Proceder a la determinación de metales pesados:

- bien después de mineralización a 450° C \pm 5° C del residuo obtenido en la determinación de la pérdida de desecación. Tratar las cenizas con 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y una gota de ácido nítrico concentrado (R), calentando unos instantes en un baño de agua a 100° C para activar la disolución y transvasar a un matraz aforado de 25 ml enjuagando la cápsula con agua destilada. Enrasar.
- Tomar un volumen v ml de solución correspondiente a 2 g de muestra a analizar y proceder a la determinación de metales pesados como se indica en el anexo.
- bien después de mineralización de una toma de ensayo exactamente pesada cercana a 5 g por vía húmeda por medio de ácido nítrico concentrado (R) y de perhidrol utilizando eventualmente un digestor microondas para acelerar la operación.
- Trasvasar el líquido obtenido a un matraz aforado de 25 ml y enrasar con las aguas de lavado. Continuar como se indica anteriormente en la determinación de metales pesados.

El contenido en metales pesados, expresados en plomo, debe ser inferior a 10 mg/kg.

6.5 Plomo.

Determinar el plomo según el método del Recueil sobre una de las dos preparaciones anteriores (6.4). El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

6.6 Mercurio.

Determinar el mercurio según el método descrito en el anexo sobre una de las dos preparaciones anteriores (6.4). El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

6.7 Cadmio.

Determinar el cadmio según el método descrito en el anexo sobre una de las dos preparaciones anteriores (6.4.). El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

6.8 Ácidos grasos libres.

Preparar 125 ml de una mezcla volumen a volumen de alcohol isopropílico y de tolueno; añadir 2 ml de una solución de fenolftaleína al 1% (m/v) en alcohol isopropílico y neutralizar con una solución alcalina hasta coloración rosa débil pero persistente.

En un matraz cónico de 500 ml, pesar exactamente un peso cercano a 5 g de la muestra a analizar, añadir la mezcla disolvente neutralizada y disolver la toma de ensayo calentando si fuera necesario; agitando vigorosamente, añadir la solución de hidróxido de potasio 0,1 M hasta obtener una coloración rosa idéntica a la obtenida en la neutralización del disolvente. Sea n el volumen añadido.

Contenido en ácidos grasos libres expresados en g de ácido oleico p. 100 (m/m):

$$\frac{n \cdot 2,8}{\text{toma de ensayo en g}}$$

El contenido en ácidos grasos libres, expresado en ácido oleico, debe ser inferior al 3 p. 100 (m/m).

6.9 Jabones.

En un matraz cónico de 250 ml, pesar exactamente un peso del producto a analizar cercano a 10 g. Añadir una mezcla de 60 ml de acetona y de 0,15 ml de una solución de azul de bromofenol al 0,5

p. 100 (m/v) en alcohol de 95 % vol. previamente neutralizado con una solución de ácido clorhídrico 0,1 M o de una solución de hidróxido de sodio 0,1 M. Calentar suavemente en baño de agua a 70° C y valorar con la solución de ácido clorhídrico 0,1 M hasta desaparición de la coloración azul. Dejar reposar 20 min., Calentar hasta que un eventual precipitado se redisuelva y, si la coloración azul reaparece, continuar la valoración.

1 ml de ácido clorhídrico en solución 0,1 M corresponde a 0,0304 g de oleato de sodio ($\text{NaC}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2$).

Contenido en jabones, expresado en g de oleato de sodio p. 100 (m/m).

$$\frac{n \cdot 3,04}{\text{toma de ensayo en g}}$$

El contenido en jabones, expresado en g de oleato de sodio, debe ser inferior a 6 p. 100 (m/m.)

6.10 Monoglicéridos.

6.10.1 Preparación de la muestra.

Hacer fundir la muestra si es sólida calentando a una temperatura inferior en 10° C a su punto de fusión; calentar igualmente una muestra líquida que presentase turbidez o partículas. Mezclar vigorosamente.

6.10.2 Modo operatorio.

Pesar exactamente, en un vaso cilíndrico de 100 ml, una toma de ensayo Q de la muestra a analizar próxima a 1 g; disolverla con 25 ml de cloroformo. Transferir esta solución a una ampolla de decantación, enjuagar el vaso cilíndrico con 25 ml de cloroformo, después con 25 ml de agua y juntar estos líquidos con el contenido de la ampolla de decantación.

Cerrarla herméticamente. Agitar durante 30 a 60 segundos. Dejar separar las dos fases (añadir 1 a 2 ml de ácido acético cristalizante (R) para romper la emulsión). Recoger la fase acuosa en un matraz cónico de 500 ml con tapón esmerilado. Extraer dos veces con 25 ml de agua la fase clorofórmica restante en la ampolla de decantación. Separar la fase acuosa y colocarla en un matraz cónico de 500 ml. Estos extractos acuosos serán utilizados para la determinación del glicerol libre.

El cloroformo se transfiere de la ampolla de decantación a un matraz cónico con tapón esmerilado de 500 ml. Añadir, agitando, 50 ml de solución acética de ácido periódico (R').

En otros 2 matraces cónicos de 500 ml con tapón esmerilado destinados a servir de "blancos", colocar 50 ml de cloroformo y 10 ml de agua. Añadir, agitando, 50 ml de solución de ácido acético periódico (R') en cada uno de los dos matraces. Dejar en reposo al menos durante 30 mn., pero no más de 90 mn., los 3 matraces así preparados.

A cada uno de estos recipientes, añadir agitando suavemente 20 ml de solución de ioduro de potasio (R). Dejar en reposo al menos 1 mn. y no más de 5 mn. antes de valorar.

Añadir entonces 100 ml de agua y valorar con una solución 0,05 M de tiosulfato de sodio con la ayuda de un agitador magnético

hasta desaparición del color marrón de la fase acuosa; añadir entonces 2 ml de la solución de engrudo de almidón (R) y continuar la adición de reactivo hasta desaparición del yodo de la capa clorofórmica y desaparición de la coloración azul de la fase acuosa.

6.10.3 Calcular el porcentaje en monoglicéridos con la fórmula:

$$\frac{(B-S) \cdot M \cdot 17,927}{P}$$

- B es la media de los volúmenes, en ml, de solución de tiosulfato de sodio utilizados para la determinación de los blancos conteniendo cloroformo.
- S es el número de mililitros de solución de tiosulfato de sodio utilizados para valorar la muestra.
- M es la molaridad de la solución de tiosulfato de sodio.
- P es el peso de la muestra a analizar contenido en el volumen de cloroformo utilizado para la determinación.
- 17,927 es el peso molecular del monoestearato de glicerilo dividido por 20.

El contenido en monoglicéridos, expresado en monoestearato de glicerilo debe ser superior al 30 p. 100 (m/m).

6.11 Glicerol libre.

A los extractos acuosos obtenidos durante la determinación de los monoglicéridos se les adiciona 50 ml de solución acética de ácido periódico (R'). Preparar simultáneamente un blanco añadiendo a 75 ml de agua contenido en un matraz cónico de 500 ml, 50 ml de solución acética de ácido periódico (R'). Continuar la determinación como se indica en el modo operativo descrito en la determinación de monoglicéridos.

Calcula el porcentaje de glicerol libre con la fórmula:

$$\frac{(b-S) \cdot M \cdot 2,30}{Q}$$

- b es el volumen en ml de tiosulfato sódico empleado en la valoración del blanco conteniendo 75 ml de agua.
- S es el volumen en ml de tiosulfato sódico utilizado en la valoración de los extractos acuosos.
- M es la molaridad de la solución de tiosulfato sódico.
- Q es el peso de la toma de ensayo inicial de la muestra a analizar (ver determinación de monoglicéridos).
El glicerol libre debe ser inferior al 7 p. 100 (m/m).

Nota: Es también posible caracterizar el glicerol por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) (5.3).

7. ACONDICIONAMIENTO.

Los antiespumantes deben ser conservados en recipientes perfectamente herméticos y al abrigo del calor.

ARGON
AR = 40,0
Nº SIN: 938
NºCAS = 7440-37-1

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Gas neutro, utilizado para las operaciones de "inertización" o de desgasificación, se utiliza también en mezcla con nitrógeno y/o dióxido de carbono

2. ETIQUETADO

El etiquetado debe mencionar la naturaleza del gas y hacer referencia a su composición y su pureza, las condiciones de seguridad deben también ser indicadas sobre los embalajes.

3. CARACTERISTICAS

Gas incoloro, inodoro e insípido. No inflamable, no mantiene la combustión.

El peso de un litro de argón, bajo la presión de 760 mm de mercurio es de 1,784 g a 0°C. Un volumen de agua disuelve 0,0336 volúmenes de argón a 20 ° C.

4. ENSAYOS

La pureza global del argón no debe ser inferior a 99 % de argón en volumen.

Antes de medir conviene dejar escapar el gas durante algunos instantes para purgar las canalizaciones.

4.1 Dosificación cromatográfica

La búsqueda y la determinación del gas: Nitrógeno, óxido de carbono (menos de 10 µl/l), oxígeno (10 ml/l), hidrógeno, dióxido de carbono (menos de 300 µl/l), etc., se obtienen rápidamente por cromatografía en fase gaseosa según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El total de las superficies de los picos cromatográficos del hidrógeno, del oxígeno y del nitrógeno no debe exceder 1.0% de la superficie del gas a examinar. Se puede igualmente utilizar el método químico siguiente para el oxígeno.

4.2 Dosificación del oxígeno según el método químico

Preparación del frasco para la búsqueda de oxígeno:

Introducir en un frasco de alrededor de 24 ml dos fragmentos de limadura de cobre de 2 cm², 16 ml de solución amoniacal de sulfato de cobre (R), después 2 ml de solución de di-clorhidrato de hidracina (R).

Tapar el frasco con un tapón de goma fácil de atravesar con una aguja para inyecciones hipodérmicas. Apretar el cuello con una cápsula metálica, a continuación cubrir la cápsula de cera para asegurar una impermeabilidad perfecta. Agitar el frasco y dejar en reposo al abrigo de la luz hasta la decoloración completa obtenida después de unos ocho días.

Realización del ensayo:

Perforar el tapón del frasco para búsqueda de oxígeno con una aguja de 8/10 de milímetro para inyección hipodérmica (tener cuidado de no sumergir esta última en el líquido) que servirá luego para la evacuación del gas después de burbujeo. Introducir a continuación otra aguja del mismo diámetro que lleve el gas distendido y sumergirla en el líquido. Después de un minuto de burbujeo, no debe observarse ninguna coloración. En presencia de oxígeno, el líquido vira rápidamente a azul y el color se intensifica con el tiempo.

5. ACONDICIONAMIENTO

El argón se distribuye en cilindros de acero de fuerte resistencia, pintados de blanco, con una válvula de aguja. La resistencia de estos cilindros debe ser controlada periódicamente.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Ascórbico (ácido)

ASCÓRBICO (ACIDO)
2,3-didehidro-L-treo-hexano-4-lactona
Acidum ascorbicum
Acido L-ascórbico
C₆H₈O₆ = 176,1
N° SIN: 300
(Oeno 18/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El ácido ascórbico se encuentra bajo la forma enólica de la 3-oxo-L-gulofuranolactona. (2,3-didehidro-L-treo-hexano-4-lactona)

Producto de la categoría de los antioxidantes, agente reductor empleado para evitar la oxidación.

Su empleo está sometido a límites reglamentarios.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Polvo cristalino blanco o amarillo muy pálido, inodoro y de sabor ácido. Las soluciones acuosas se alteran rápidamente con el aire y con la luz, su estabilidad máxima es a un pH de 5,4. El punto de fusión en tubo capilar es cercano a 190°C con descomposición.

El ácido ascórbico en solución acuosa tiene un pH inferior o igual a 3

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	290 g/l
Alcohol a 95% vol.	320 g/l
Metanol	125 g/l
Acetona	soluble
Benceno, cloroformo, éter etílico, éter de petróleo:	insoluble.

5. PODER ROTATORIO

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Ascórbico (ácido)

El ácido ascórbico en solución acuosa del 10 p. 100 (m/v), tiene un poder rotatorio específico

$[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}}$ comprendido entre + 20,5° y + 21,5°.

6. ABSORCION EN EL ULTRAVIOLETA

El ácido ascórbico en solución alcohólica de 10 mg/l presenta un espectro de absorción con un máximo cercano a 244 nm.

La solución presenta una extinción específica:

$E_{1\text{ cm}}^{1\text{ por ciento}}$ cercana a 560.

7. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

7.1 Preparación de la solución para los ensayos

Disolver 5 g de ácido ascórbico en agua y completar a 100 ml con el mismo disolvente.

7.2 Añadir a 2 ml de la solución preparada para los ensayos (7.1), 0,5 g de carbonato monosódico. Se desprende dióxido de carbono.

7.3 Añadir 1 ml de la solución preparada para los ensayos (7.1), unas gotas de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y unas gotas de solución de nitrato de plata al 1 p. 100 (R). Se forma un precipitado gris.

7.4 Añadir a 1 ml de la solución preparada para los ensayos (7.1), una gota de una solución recientemente preparada de nitrohexacianoferrato(III) de sodio $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sodio pentaciano-nitrosilferrato) al 5 p. 100 (m/v) y 2 ml de solución diluida de hidróxido de sodio al 10 p. 100 (R). Añadir seguidamente, gota a gota 0,6 a 0,7 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y agitar. La coloración amarilla vira a azul.

7.5 Añadir a 2 ml de solución de 2,6-diclorofenolindofenol (R), gota a gota la solución preparada para los ensayos (7.1), la decolora instantáneamente.

8. ENSAYOS

8.1 Cenizas sulfúricas

Determinadas sobre 1,0 g de ácido ascórbico. El contenido de cenizas sulfúricas no deberá ser superior a 1 g/kg.

8.2 Aspecto de la solución

La solución preparada para los ensayos (7.1) deberá ser límpida e incolora.

8.3 Determinación del pH

El pH de la solución preparada para los ensayos (7.1) debe estar comprendido entre 2,4 y 2,8.

8.4 Metales pesados

10 ml de la solución preparada para los ensayos (7.1) deberá cumplir el ensayo límite de los metales pesados descrito en el anexo.

8.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.1), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

8.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.1) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

8.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.1) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

8.8 Hierro

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.1) utilizar el método por espectrometría de absorción atómica que figura en el "Recueil". (Contenido en hierro inferior a 5 mg/kg).

8.9 Cobre

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.1) utilizar el método por espectrometría de absorción atómica que figura en el "Recueil". (Contenido en cobre inferior a 2 mg/kg).

8.10 Humedad

La pérdida por deshidratación después de secado en un desecador a vacío con ácido sulfúrico durante 24 horas debe ser inferior a 0,4%.

8.11 Cuantificación

Disolver en 80 ml de agua, recientemente hervida y enfriada a la que se ha añadido 10 ml de ácido sulfúrico diluido al 10 p. 100 (R), una alícuota exactamente pesada, cercana a 0,20 g. Añadir 1 ml de engrudo de almidón (R) y valorar con yodo 0,05 M hasta coloración azul persistente.

1 ml de yodo 0,05 M corresponde a 8,81 mg de ácido ascórbico.

9. CONSERVACIÓN

El ácido ascórbico debe ser conservado en recipientes no metálicos, herméticamente cerrados y al abrigo de la luz. El producto debe contener un mínimo de 99 p. 100 de ácido ascórbico.

soluciones acuosas se alteran rápidamente con el aire y la luz.

ÁCIDO ISOASCÓRBICO

El ácido isoascorbico o ácido D-ascórbico, o ácido eritórbico, tiene el mismo poder antioxidante que el ácido ascórbico y puede ser empleado para este mismo fin en enología.

Este ácido presenta el mismo aspecto y las mismas características de solubilidad que el ácido ascórbico.

Inverso óptico del ácido ascórbico tiene, en las mismas condiciones, un poder rotatorio específico. $[\alpha]_D^{20^\circ}$ comprendido entre -20° y $-21,5^\circ$.

Este ácido, con excepción del poder rotatorio, debe presentar las mismas características, responder a las mismas reacciones de identificación, cumplir los mismos ensayos y responder a la misma dosis que el ácido ascórbico.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Ascórbico (ácido)

Observación: La actividad vitamínica C del ácido isoascórbico es, aproximadamente, 1/20 de la del ácido ascórbico.

Nota: Existe un anteproyecto de resolución para la inscripción de este producto en el código internacional de prácticas enológicas.

AZÚCAR DE UVA
(Oeno 47/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El azúcar de uva se obtiene exclusivamente a partir del mosto de uva. Su adición al vino está sometida a reglamentación.

El etiquetado o, en su defecto, el documento que acompaña a los recipientes que contienen el azúcar de uva debe mencionar la riqueza en azúcar.

1. CARACTERÍSTICAS

Líquido siruposo, blanco lechoso o ligeramente amarillento, sabor azucarado.

Índice de refracción a 20°C	1,42410 – 1,46663
Azúcares totales expresados en azúcar invertido	63 % m/m mínimo
Absorbancia a 425 nm espesor de 1 cm a 25° Brix	máximo 0,100
pH a 25°C Brix	máximo 5
Acidez por valoración en meq/kg de azúcar	máximo 15
Sacarosa	Negativo por el método preconizado
Dióxido de azufre en mg/kg de azúcar	máximo 25
Índice de Folin-Ciocalteu a 25° Brix	máximo 6
Cationes totales en meq/kg de azúcar	máximo 8
Conductividad a 25° Brix y 20°C en micro-Siemens por cm (μScm^{-1})	máximo 120
5-hidroximetilfurfural en mg/kg de azúcar	máximo 25
Etanol residual g/kg de azúcar	máximo 8
Metales pesados en mg/kg de azúcar de uva expresados en plomo	inferior a 10
Ausencia de antisépticos y antifermentos	

1° Brix = 1 g de azúcar en 100 g de solución

2. ENSAYOS

2.1 Preparación de la muestra

La toma de muestra para las diferentes determinaciones es difícil, es aconsejable preparar las 2 diluciones siguientes:

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

2.1.1 Solución principal I, para las determinaciones siguientes: valoración de acidez, dióxido de azufre total, cationes totales.

Pesar exactamente 200 g de azúcar de uva. Llevar a un volumen de 500 ml con agua.

2.1.2 Solución principal II, es necesaria para las determinaciones siguientes: índice de Folin-Ciocalteu, pH, conductividad, investigación de sacarosa, absorbancia a 425 nm.

Diluir el azúcar de uva con agua hasta alcanzar la concentración de 25° Brix \pm 0,5°Brix (25 g de azúcar en 100 g de solución).

2.2 Índice de refracción a 20°C(azúcares totales)

2.2.1 Aparatos

El refractómetro utilizado mide, según el tipo de graduación:

- Ya sea el 0,1 % en masa de sacarosa (o materia seca o grados Brix)
- O bien la quinta cifra decimal del Índice de Refracción.

El refractómetro utilizado debe estar provisto de un termómetro (+ 10°C a + 30°C)

2.2.2 Modo operativo

Depositar 2 gotas de azúcar de uva sobre la superficie de vidrio del prisma fijo, abatir el prisma móvil y dirigir el instrumento hacia una fuente luminosa que ilumina la escala graduada. Observar entonces sobre esta escala una línea de separación entre una zona inferior clara y una zona superior oscura, leer la graduación en donde se sitúa este límite y anotar la temperatura t °C.

2.2.3 Cálculos

Si el aparato está graduado en tanto por ciento (m/m) de sacarosa (o materias secas o grados Brix), la medida corregida a 20°C con ayuda de la tabla 2 se traslada a la tabla 1 que muestra (columna 3) el contenido en azúcares totales en tanto por ciento (m/m) expresado en azúcar.

Si el aparato está graduado en índice de refracción, el índice medido a t °C se lleva a la tabla 1 para obtener (columna 1) el valor correspondiente en tanto por ciento (m/m) de sacarosa a t °C. Este valor expresado a 20°C por medio de la tabla de corrección de temperatura nº 2 se lleva a la tabla 1 que da (columna 3) el contenido en azúcares totales en tanto por ciento (m/m) de azúcar invertido.

Para obtener el índice de refracción a 20°C, llevar el contenido en azúcares totales expresados en azúcar invertido a la tabla 1.

2.2.4 Expresión de los resultados

El contenido en azúcares totales expresados en tanto p. 100 en masa de sacarosa se da con un decimal.

El índice de refracción a 20°C se da con 5 decimales.

2.3 Absorbancia a 425 nm de la solución a 25° Brix

Previamente a la medida, la solución principal II se filtra sobre un filtro de membrana de porosidad 0,45 µm.

La absorbancia de la solución principal II (25°C Brix) (3.1.2) se mide en una cubeta de 1 cm a 425 nm.

2.4 Medida del pH

Medir el pH a 20°C de la solución principal II (25°C Brix) (3.1.2). Efectuar al menos dos determinaciones sobre la misma muestra. Tomar como resultado la media aritmética de las dos determinaciones, que no se deben diferenciar en más de 0,05.

2.5 Acidez por valoración

En un vaso de precipitado, poner 10 ml de la solución principal I (3.1.1) y añadir solución 0,1 M (o 0,01 M) de hidróxido sódico hasta que el pH medido con un electrodo de vidrio, sea igual a 7,0 a 20°C.

La adición de la solución de hidróxido sódico debe hacerse lentamente y con agitación constante.

1 ml de NaOH 0,1 M = 7,5 mg ácido tartárico o 0,1 meq.

Expresión de resultados:

En meq por kilogramo de azúcares totales con un decimal.

2.6 Determinación de sacarosa por cromatografía en capa fina

2.6.1 Preparación de la muestra.

Diluir la solución principal II (25° Brix) (3.1.2) a un cuarto: 25 ml se llevan a 100 ml en un matraz aforado con agua.

2.6.2 Obtención del cromatograma

Depositar sobre la línea de partida de la placa (R) trazada a 2 cm de la base, 10µl de muestra y 10µl de la solución de referencia.

Después de depositar estas sustancias, colocar la placa en una cubeta de desarrollo que contiene el solvente (R).

Dejar que migre el solvente hasta una altura de 16 cm desde la línea de partida.

Una vez retirada la placa de la cubeta se seca en corriente de aire, después se coloca en estufa durante 15 minutos a 105°C paralelamente a la corriente de aire, después de ser pulverizada con el reactivo revelador.

En presencia de sacarosa aparece una mancha de color amarillo anaranjado cuyo R_f es idéntico al de la sacarosa en la solución de referencia. La glucosa y la fructosa proporcionan una mancha amarilla anaranjada cuyo R_f es superior al de la mancha de sacarosa.

Si se produce una coloración amarilla anaranjada, ésta no deberá ser más intensa que la obtenida con la solución de sacarosa de referencia.

Es posible igualmente utilizar métodos por cromatografía líquida o gaseosa de alta eficacia. El método puesto a punto debe permitir detectar al menos 2 g de sacarosa por kg de azúcar de uva.

2.7 Dióxido de azufre

Introducir 25,0 ml de la solución principal I (3.1.1) y 5 ml de ácido ortofosfórico al 25 p. 100 (R) en el aparato de arrastre y proseguir la operación como se indica en el método de referencia del "Recueil".

2.8 Índice de Folin-Ciocalteu de la solución a 25°Brix

En un matraz aforado de 100 ml, introducir respetando el siguiente orden:

- 5 ml de solución principal II (3.1.2)
- 50 ml de agua
- 5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (R).
- 20 ml de solución de carbonato de sodio (R).

Llevar a 100 ml con agua. Agitar para homogeneizar. Esperar 30 minutos para conseguir una reacción estable

Determinar la absorbancia a 750 nm con un espesor de 1 cm frente a un testigo preparado con agua en lugar de la solución principal II.

Expresión de resultados:

Expresar los resultados bajo la forma de un índice obtenido multiplicando la absorbancia por 16, para tener una escala comparable a la que se utiliza en el caso de los vinos.

2.9 Cationes totales

En una columna de diámetro interior de 1 cm colocar alrededor de 10 ml de resina ácida cambiadora de cationes.

Lavar a continuación con agua hasta desaparición de la acidez de las aguas de lavado mediante papel indicador de pH.

Verter 100 ml de la solución principal I (3.1.1) (una gota/segundo). Lavar con 50 ml de agua y valorar la acidez en el efluente con solución de NaOH 0,1M hasta pH 7,0, sea *n* ml gastados de hidróxido sódico.

Cálculo:

$Q \text{ meq/kg de azúcar de uva} = n \times 2,5$

Cationes totales en meq/kg de azúcar de uva = *Q* – acidez valorada en meq/kg de azúcar de uva.

Expresión de resultados:

Los cationes totales se expresan en meq/kg de azúcares totales con un decimal.

2.10 Conductividad de la solución a 25°Brix

Llevar la solución principal II (3.1.2) a 20°C por inmersión en baño de agua y continuar el análisis como se indica en Anexo II (azúcares).

Expresión de resultados:

La conductividad se expresa en micro-Siemens por cm ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) a 20°C sin decimales, y concierne a una solución de 25°Brix de azúcar de uva.

2.11 5-(hidroximetil)furfural (HMF)

Principio:

El HMF se determina por HPLC (cromatografía en fase líquida de alta eficacia).

Aparatos: (dados a título de ejemplo)

Parámetros instrumentales:

- Cromatógrafo equipado de una bomba isocrática.
- Detector UV/visible.
- Columna: sílice C 18 (20 cm; 4,6 mm; 5 μm)
- Fase móvil: agua desmineralizada ultra filtrada – metanol – ácido acético (80:10,3:v/v/v).

- Flujo 0,5 ml/mn
- Longitud de onda de detección : 280 nm
- Volumen inyectado: 20 µl

Preparación de la solución patrón:

En un matraz aforado de 100 ml, introducir 20 mg de HMF previamente pesado, con una precisión de 0,1 mg. y enrasar con agua desmineralizada ultra filtrada.

Introducir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml y enrasar con agua desmineralizada ultra filtrada (o equivalente, de resistividad de 18,2 MΩ por ejemplo); la solución es de 20 mg/l; esta solución se prepara diariamente.

Preparación de la muestra:

Las muestras y la solución patrón se inyectan después de filtración a través de una membrana cuyos poros tengan un diámetro de 0,45 µm.

Modo operativo:

La columna cromatográfica se acondiciona con la fase móvil aproximadamente durante 30 minutos antes de la inyección de las muestras.

2.12 Metales pesados

Disolver 12 g de azúcar de uva en 15 ml de agua, 10 ml de solución de esta forma preparada se coloca en un tubo de ensayo con 2 ml de una solución tampón de pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (R). No se debe producir ningún precipitado. Si aparece una coloración parda, debe ser inferior a la que presenta el testigo preparado como se indica en el anexo.

(El contenido en metales pesados expresados en plomo, tiene que ser inferior a 10 mg/kg).

2.13 Plomo

A partir de la solución principal I (3.1.1) determinar el plomo según el método del "Recueil" (el contenido en plomo, tiene que ser inferior a 1 mg/kg).

2.14 Mercurio

A partir de la solución principal I (3.1.1) determinar el mercurio según el método del anexo. (Contenido en mercurio inferior a 0,3 mg/kg).

2.15 Arsénico

A partir de la solución principal I (3.1.1) determinar el arsénico según el método del anexo. (Contenido en arsénico inferior a 0,5 mg/kg).

2.16 Etanol

2.16.1 *Principio*

Destilación simple de la solución de muestra alcalinizada. El alcohol se oxida en medio ácido por una solución de dicromato potásico en medio acético.

El exceso de dicromato se valora mediante una solución de hierro(II) y de amonio.

2.16.2 *Modo operativo*

Destilación Separar el alcohol por destilación utilizando un aparato que no debe producir una pérdida de alcohol superior a 0,02 % volumen en el curso de la destilación.

Introducir en el matraz de destilación 100 g de azúcar de uva y 100 ml de agua. Recoger el destilado en un matraz aforado de 100 ml y enrasar con agua.

Oxidación: En un erlenmeyer con boca esmerilada de 300 ml cuyo cuello termina por una parte ensanchada, lo que permite lavar el cuello sin pérdidas, poner 20,0 ml de solución valorada de dicromato potásico (de 33,79 g/l), 20 ml de ácido sulfúrico diluido a un medio (v/v) y agitar. Añadir 20 ml de destilado. Tapar el erlenmeyer, agitar y esperar al menos treinta minutos, agitando de vez en cuando.

Valoración: Añadir 4 gotas de reactivo ortofenantrolina (0,695 g de sulfato de hierro (II) se disuelven en 100 ml de agua a continuación añadir 1,485 g de ortofenantrolina monohidrato, calentar y agitar).

Valorar el exceso de dicromato mediante la solución de sulfato de hierro (II) y amonio (R). Detener la adición de sulfato de hierro (II) cuando el medio vira de azul-verdoso a marrón.

Si se produce un ligero exceso en el viraje, es necesario retroceder al viraje preciso con la solución de permanganato potásico (1,083 g/l). La décima parte del volumen empleado de esta solución se resta del volumen de la solución de hierro (II), sea "n" esta diferencia.

Hacer la misma operación con un erlenmeyer semejante en el que se pondrán los mismos volúmenes de los mismos reactivos,

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

excepto los 20,0 ml del destilado que serán sustituidos por 20,0 ml de agua. Sea n' el volumen de solución de hierro (II) empleado.

2.16.3

Cálculos

n' ml de solución de hierro (II) reducen a 20 ml de solución de dicromato que oxidan 157,85 mg de etanol.

Un mililitro de solución de hierro (II) tiene el mismo poder reductor que

$$\frac{157,85}{n'} \text{ mg de etanol}$$

$n' - n$ ml de solución de hierro (II) tienen el mismo poder reductor que

$$157,85 \frac{n' - n}{n'} \text{ mg de etanol}$$

Si 100 g de azúcar de uva se destilan hasta 100 ml y se toman 20 ml para la valoración, la concentración de alcohol puro es:

$$\text{Etanol en g/kg de azúcar de uva} = 7,892 \frac{n' - n}{n'}$$

2.16.4

Expresión de resultados: en g por kilogramo de azúcar de uva con 1 decimal.

2.17 Meso-inositol

Mediante cromatografía en fase gaseosa de un derivado silado.

Nota: Las informaciones siguientes se dan a título indicativo, existen otras técnicas de derivación de azúcares y polioles así como otras técnicas cromatográficas para determinar el mesoinositol.

2.17.1

Preparación de la muestra:

5 g de azúcar de uva se diluyen hasta 50 ml, con agua. 50 μ l de una solución de metil D-glucopiranoside de 1 g/litro (patrón interno) se secan a vacío en un pequeño frasco de 2 ml.

Disolver el residuo con 100 μ l de piridina, añadir 100 μ l de trimetilclorosilano, cerrar el frasquito con un tapón de teflón y

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

calentar durante 1 hora a 80°C. Inyectar 1 µl con división del volumen inyectado al 1/60.

2.17.2

Separación

Columna: tipo capilar apolar de sílice fundida de 25 m de longitud y 0,2 mm de diámetro interno.

Gas portador: helio 1 ml/minuto

Inyector y detector: 280°C

Temperatura de la columna: de 60°C a 250°C, a 4°C/minuto, después isoterma a 250°C.

2.17.3

Expresión de resultados: en g por kg de azúcar.

3. CONSERVACIÓN

El azúcar de uva se debe conservar en recipientes cerrados y a temperatura ambiente.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

ANEXO I (azúcares)

TABLA 1

Contenido de azúcares de los mostos por refractometría

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 *C	Masa volúmica a 20°C	Azúcares en 9/1	Azúcares en g/kg
50.0	1.42008	1.2342	627.6	508.5
50.1	1.42029	1.2348	629.3	509.6
50.2	1.42050	1.2355	630.9	510.6
50.3	1.42071	1.2362	632.4	511.6
50.4	1.42092	1.2367	634.1	512.7
50.5	1.42113	1.2374	635.7	513.7
50.6	1.42135	1.2381	637.3	514.7
50.7	1.42156	1.2386	638.7	515.7
50.8	1.42177	1.2391	640.4	516.8
50.9	1.42198	1.2396	641.9	517.8
51.0	1.42219	1.2401	643.4	518.8
51.1	1.42240	1.2406	645.0	519.9
51.2	1.42261	1.2411	646.5	520.9
51.3	1.42282	1.2416	648.1	522.0
51.4	1.42304	1.2421	649.6	523.0
51.5	1.42325	1.2427	651.2	524.0
51.6	1.42347	1.2434	652.9	525.1
51.7	1.42368	1.2441	654.5	526.1
51.8	1.42389	1.2447	656.1	527.1
51.9	1.42410	1.2454	657.8	528.2
52.0	1.42432	1.2461	659.4	529.2
52.1	1.42453	1.2466	661.0	530.2
52.2	1.42475	1.2470	662.5	531.3
52.3	1.42496	1.2475	664.1	532.3
52.4	1.42517	1.2480	665.6	533.3
52.5	1.42538	1.2486	667.2	534.4
52.6	1.42560	1.2493	668.9	535.4
52.7	1.42581	1.2500	670.5	536.4
52.8	1.42603	1.2506	672.2	537.5
52.9	1.42624	1.2513	673.8	538.5
53.0	1.42645	1.2520	675.5	539.5
53.1	1.42667	1.2525	677.1	540.6
53.2	1.42689	1.2530	678.5	541.5
53.3	1.42711	1.2535	680.2	542.6
53.4	1.42733	1.2540	681.8	543.7
53.5	1.42754	1.2546	683.4	544.7
53.6	1.42776	1.2553	685.1	545.8
53.7	1.42797	1.2560	686.7	546.7
53.8	1.42819	1.2566	688.4	547.8
53.9	1.42840	1.2573	690.1	548.9
54.0	1.42861	1.2580	691.7	549.8
54.1	1.42884	1.2585	693.3	550.9
54.2	1.42906	1.2590	694.9	551.9
54.3	1.42927	1.2595	696.5	553.0
54.4	1.42949	1.2600	698.1	554.0
54.5	1.42971	1.2606	699.7	555.1
54.6	1.42993	1.2613	701.4	556.1
54.7	1.43014	1.2620	703.1	557.1
54.8	1.43036	1.2625	704.7	558.2
54.9	1.43058	1.2630	706.2	559.1

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 1 (Continuación)

Sacarosa % (m/M)	Indice de refracción a 20 °C	Masa volúmica a 20°C	Azúcares en g/100g	Azúcares en g/kg
55.0	1.43079	1.2635	707.8	560.2
55.1	1.43102	1.2639	709.4	561.3
55.2	1.43124	1.2645	711.0	562.3
55.3	1.43146	1.2652	712.7	563.3
55.4	1.43168	1.2659	714.4	564.3
55.5	1.43189	1.2665	716.1	565.4
55.6	1.43211	1.2672	717.8	566.4
55.7	1.43233	1.2679	719.5	567.5
55.8	1.43255	1.2685	721.1	568.5
55.9	1.43277	1.2692	722.8	569.5
56.0	1.43298	1.2699	724.5	570.5
56.1	1.43321	1.2703	726.1	571.6
56.2	1.43343	1.2708	727.7	572.6
56.3	1.43365	1.2713	729.3	573.7
56.4	1.43387	1.2718	730.9	574.7
56.5	1.43409	1.2724	732.6	575.8
56.6	1.43431	1.2731	734.3	576.8
56.7	1.43454	1.2738	736.0	577.8
56.8	1.43476	1.2744	737.6	578.8
56.9	1.43498	1.2751	739.4	579.9
57.0	1.43519	1.2758	741.1	580.9
57.1	1.43542	1.2763	742.8	582.0
57.2	1.43564	1.2768	744.4	583.0
57.3	1.43586	1.2773	745.9	584.0
57.4	1.43609	1.2778	747.6	585.1
57.5	1.43631	1.2784	749.3	586.1
57.6	1.43653	1.2791	751.0	587.1
57.7	1.43675	1.2798	752.7	588.1
57.8	1.43698	1.2804	754.4	589.2
57.9	1.43720	1.2810	756.1	590.2
58.0	1.43741	1.2818	757.8	591.2
58.1	1.43764	1.2822	759.5	592.3
58.2	1.43784	1.2827	761.1	593.4
58.3	1.43809	1.2832	762.6	594.3
58.4	1.43832	1.2837	764.3	595.4
58.5	1.43854	1.2843	766.0	596.4
58.6	1.43877	1.2850	767.8	597.5
58.7	1.43899	1.2857	769.5	598.5
58.8	1.43922	1.2863	771.1	599.5
58.9	1.43944	1.2869	772.9	600.6
59.0	1.43966	1.2876	774.6	601.6
59.1	1.43988	1.2882	776.3	602.6
59.2	1.44011	1.2889	778.1	603.7
59.3	1.44034	1.2896	779.8	604.7
59.4	1.44057	1.2902	781.6	605.8
59.5	1.44079	1.2909	783.3	606.8
59.6	1.44102	1.2916	785.2	607.9
59.7	1.44124	1.2921	786.8	608.9
59.8	1.44147	1.2926	788.4	609.9
59.9	1.44169	1.2931	790.0	610.9

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 1 (Continuación)

Sacarosa % (m/m)	Indice de refracción a 20 °C	Masa volumica a 20 °C	Azúcares en 9/1	Azúcares en g/kg
60.0	1.44192	1.2936	791.7	612.0
60.1	1.44215	1.2942	793.3	613.0
60.2	1.44238	1.2949	795.2	614.1
60.3	1.44260	1.2956	796.9	615.1
60.4	1.44283	1.2962	798.6	616.1
60.5	1.44305	1.2969	800.5	617.2
60.6	1.44328	1.2976	802.2	618.2
60.7	1.44351	1.2981	803.9	619.3
60.8	1.44374	1.2986	805.5	620.3
60.9	1.44397	1.2991	807.1	621.3
61.0	1.44419	1.2996	808.7	622.3
61.1	1.44442	1.3002	810.5	623.4
61.2	1.44465	1.3009	812.3	624.4
61.3	1.44488	1.3016	814.2	625.5
61.4	1.44511	1.3022	815.8	626.5
61.5	1.44534	1.3029	817.7	627.6
61.6	1.44557	1.3036	819.4	628.6
61.7	1.44580	1.3042	821.3	629.7
61.8	1.44603	1.3049	823.0	630.7
61.9	1.44626	1.3056	824.8	631.7
62.0	1.44648	1.3062	826.6	632.8
62.1	1.44672	1.3068	828.3	633.8
62.2	1.44695	1.3075	830.0	634.8
62.3	1.44718	1.3080	831.8	635.9
62.4	1.44741	1.3085	833.4	636.9
62.5	1.44764	1.3090	835.1	638.0
62.6	1.44787	1.3095	836.8	639.0
62.7	1.44810	1.3101	838.5	640.0
62.8	1.44833	1.3108	840.2	641.0
62.9	1.44856	1.3115	842.1	642.1
63.0	1.44879	1.3121	843.8	643.1
63.1	1.44902	1.3128	845.7	644.2
63.2	1.44926	1.3135	847.5	645.2
63.3	1.44949	1.3141	849.3	646.3
63.4	1.44972	1.3148	851.1	647.3
63.5	1.44955	1.3155	853.0	648.4
63.6	1.45019	1.3161	854.7	649.4
63.7	1.45042	1.3168	856.5	650.4
63.8	1.45065	1.3175	858.4	651.5
63.9	1.45088	1.3180	860.0	652.5
64.0	1.45112	1.3185	861.6	653.5
64.1	1.45135	1.3190	863.4	654.6
64.2	1.45158	1.3195	865.1	655.6
64.3	1.45181	1.3201	866.9	656.7
64.4	1.45205	1.3208	868.7	657.7
64.5	1.45228	1.3215	870.6	658.8
64.6	1.45252	1.3221	872.3	659.8
64.7	1.45275	1.3228	874.1	660.8
64.8	1.45299	1.3235	876.0	661.9
64.9	1.45322	1.3241	877.8	662.9

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 1 (Continuación)

Sacarosa % (m/m)	Indice de refracción a 20 'C	Masa volúmica a 20'C	Azúcares en g/1	Azúcares en g/kg
65.0	1.45347	1.3248	879.7	664.0
65.1	1.45369	1.3255	881.5	665.0
65.2	1.45393	1.3261	883.2	666.0
65.3	1.45416	1.3268	885.0	667.0
65.4	1.45440	1.3275	886.9	668.1
65.5	1.45463	1.3281	888.8	669.2
65.6	1.45487	1.3288	890.6	670.2
65.7	1.45510	1.3295	892.4	671.2
65.8	1.45534	1.3301	894.2	672.3
65.9	1.45557	1.3308	896.0	673.3
66.0	1.45583	1.3315	898.0	674.4
66.1	1.45605	1.3320	899.6	675.4
66.2	1.45629	1.3325	901.3	676.4
66.3	1.45652	1.3330	903.1	677.5
66.4	1.45676	1.3335	904.8	678.5
66.5	1.45700	1.3341	906.7	679.6
66.6	1.45724	1.3348	908.5	680.6
66.7	1.45747	1.3355	910.4	681.7
66.8	1.45771	1.3361	912.2	682.7
66.9	1.45795	1.3367	913.9	683.7
67.0	1.45820	1.3374	915.9	684.8
67.1	1.45843	1.3380	917.6	685.8
67.2	1.45867	1.3387	919.6	686.9
67.3	1.45890	1.3395	921.4	687.9
67.4	1.45914	1.3400	923.1	688.9
67.5	1.45938	1.3407	925.1	690.0
67.6	1.45962	1.3415	927.0	691.0
67.7	1.45986	1.3420	928.8	692.1
67.8	1.46010	1.3427	930.6	693.1
67.9	1.46034	1.3434	932.6	694.2
68.0	1.46060	1.3440	934.4	695.2
68.1	1.46082	1.3447	936.2	696.2
68.2	1.46106	1.3454	938.0	697.2
68.3	1.46130	1.3460	939.9	698.3
68.4	1.46154	1.3466	941.8	699.4
68.5	1.46178	1.3473	943.7	700.4
68.6	1.46202	1.3479	945.4	701.4
68.7	1.46226	1.3486	947.4	702.5
68.8	1.46251	1.3493	949.2	703.5
68.9	1.46275	1.3499	951.1	704.6
69.0	1.46301	1.3506	953.0	705.6
69.1	1.46323	1.3513	954.8	706.6
69.2	1.46347	1.3519	956.7	707.7
69.3	1.46371	1.3526	958.6	708.7
69.4	1.46396	1.3533	960.6	709.8
69.5	1.46420	1.3539	962.4	710.8
69.6	1.46444	1.3546	964.3	711.9
69.7	1.46468	1.3553	966.2	712.9
69.8	1.46493	1.3560	968.2	714.0
69.9	1.46517	1.3566	970.0	715.0

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 1 (Continuación)

Sacarosa % (m/m)	Indice de refracción a 20 °C	Masa volúmica a 20°C	Azúcares en 9/1	Azúcares en g/kg
70.0	1.46544	1.3573	971.8	716.0
70.1	1.46565	1.3579	973.8	717.1
70.2	1.46590	1.3586	975.6	718.1
70.3	1.46614	1.3593	977.6	719.2
70.4	1.46639	1.3599	979.4	720.2
70.5	1.46663	1.3606	981.3	721.2
70.6	1.46688	1.3613	983.3	722.3
70.7	1.46712	1.3619	985.2	723.4
70.8	1.46737	1.3626	987.1	724.4
70.9	1.46761	1.3633	988.9	725.4
71.0	1.46789	1.3639	990.9	726.5
71.1	1.46810	1.3646	992.8	727.5
71.2	1.46835	1.3653	994.8	728.6
71.3	1.46859	1.3659	996.6	729.6
71.4	1.46884	1.3665	998.5	730.7
71.5	1.46908	1.3672	1000.4	731.7
71.6	1.46933	1.3678	1002.2	732.7
71.7	1.46957	1.3685	1004.2	733.8
71.8	1.46982	1.3692	1006.1	734.8
71.9	1.47007	1.3698	1008.0	735.9
72.0	1.47036	1.3705	1009.9	736.9
72.1	1.47056	1.3712	1012.0	738.0
72.2	1.47081	1.3718	1013.8	739.0
72.3	1.47106	1.3725	1015.7	740.0
72.4	1.47131	1.3732	1017.7	741.1
72.5	1.47155	1.3738	1019.5	742.1
72.6	1.47180	1.3745	1021.5	743.2
72.7	1.47205	1.3752	1023.4	744.2
72.8	1.47230	1.3758	1025.4	745.3
72.9	1.47254	1.3765	1027.3	746.3
73.0	1.47284	1.3772	1029.3	747.4
73.1	1.47304	1.3778	1031.2	748.4
73.2	1.47329	1.3785	1033.2	749.5
73.3	1.47354	1.3792	1035.1	750.5
73.4	1.47379	1.3798	1037.1	751.6
73.5	1.47404	1.3805	1039.0	752.6
73.6	1.47429	1.3812	1040.9	753.6
73.7	1.47454	1.3818	1042.8	754.7
73.8	1.47479	1.3825	1044.8	755.7
73.9	1.47504	1.3832	1046.8	756.8
74.0	1.47534	1.3838	1048.6	757.8
74.1	1.47554	1.3845	1050.7	758.9
74.2	1.47579	1.3852	1052.6	759.9
74.3	1.47604	1.3858	1054.6	761.0
74.4	1.47629	1.3865	1056.5	762.0
74.5	1.47654	1.3871	1058.5	763.1
74.6	1.47679	1.3878	1060.4	764.1
74.7	1.47704	1.3885	1062.3	765.1
74.8	1.47730	1.3892	1064.4	766.2
74.9	1.47755	1.3898	1066.3	767.2
75.0	1.47785	1.3905	1068.3	768.3

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 2

Corrección del índice másico en función de la temperatura.

Tempé- rature °C	Titre massique mesuré en %														
	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
5	-0,82	-0,87	-0,92	-0,95	-0,99										
6	-0,80	-0,82	-0,87	-0,90	-0,94										
7	-0,74	-0,78	-0,82	-0,84	-0,88										
8	-0,69	-0,73	-0,76	-0,79	-0,82										
9	-0,64	-0,67	-0,71	-0,73	-0,75										
10	-0,59	-0,62	-0,65	-0,67	-0,69	-0,71	-0,72	-0,73	-0,74	-0,75	-0,75	-0,75	-0,75	-0,75	
11	-0,54	-0,57	-0,59	-0,61	-0,63	-0,64	-0,65	-0,66	-0,67	-0,68	-0,68	-0,68	-0,68	-0,67	
12	-0,49	-0,51	-0,53	-0,55	-0,56	-0,57	-0,58	-0,59	-0,60	-0,60	-0,61	-0,61	-0,60	-0,60	
13	-0,43	-0,45	-0,47	-0,48	-0,50	-0,51	-0,52	-0,52	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	
14	-0,38	-0,39	-0,40	-0,42	-0,43	-0,44	-0,44	-0,45	-0,45	-0,46	-0,46	-0,46	-0,46	-0,45	
15	-0,32	-0,33	-0,34	-0,35	-0,36	-0,37	-0,37	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	
16	-0,26	-0,27	-0,28	-0,28	-0,29	-0,30	-0,30	-0,30	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,30	
17	-0,20	-0,20	-0,21	-0,21	-0,22	-0,22	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	
18	-0,13	-0,14	-0,14	-0,14	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	
19	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	
20	0	R É F É R E N C E													0
21	+0,07	+0,07	+0,07	+0,07	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	
22	+0,14	+0,14	+0,15	+0,15	+0,15	+0,15	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,15	+0,15	
23	+0,21	+0,22	+0,22	+0,23	+0,23	+0,23	+0,23	+0,24	+0,24	+0,24	+0,24	+0,23	+0,23	+0,23	
24	+0,29	+0,29	+0,30	+0,30	+0,31	+0,31	+0,31	+0,32	+0,32	+0,32	+0,32	+0,31	+0,31	+0,31	
25	+0,36	+0,37	+0,38	+0,38	+0,39	+0,39	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,39	+0,39	+0,39	
26	+0,44	+0,45	+0,46	+0,46	+0,47	+0,47	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,47	+0,47	+0,46	
27	+0,52	+0,53	+0,54	+0,55	+0,55	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,55	+0,55	+0,54	
28	+0,60	+0,61	+0,62	+0,63	+0,64	+0,64	+0,64	+0,65	+0,65	+0,64	+0,64	+0,64	+0,63	+0,62	
29	+0,68	+0,69	+0,70	+0,71	+0,72	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,72	+0,72	+0,71	+0,70	
30	+0,77	+0,78	+0,79	+0,80	+0,81	+0,81	+0,81	+0,82	+0,81	+0,81	+0,81	+0,80	+0,79	+0,78	
31	+0,85	+0,87	+0,88	+0,89	+0,89	+0,90	+0,90	+0,90	+0,90	+0,90	+0,89	+0,88	+0,87	+0,86	
32	+0,94	+0,95	+0,96	+0,97	+0,98	+0,99	+0,99	+0,99	+0,99	+0,98	+0,97	+0,96	+0,95	+0,94	
33	+1,03	+1,04	+1,05	+1,06	+1,07	+1,08	+1,08	+1,08	+1,07	+1,07	+1,06	+1,05	+1,03	+1,02	
34	+1,12	+1,19	+1,15	+1,15	+1,16	+1,17	+1,17	+1,17	+1,16	+1,15	+1,14	+1,13	+1,12	+1,10	
35	+1,22	+1,23	+1,24	+1,25	+1,25	+1,26	+1,26	+1,25	+1,25	+1,24	+1,23	+1,21	+1,20	+1,18	
36	+1,31	+1,32	+1,33	+1,34	+1,35	+1,35	+1,35	+1,35	+1,34	+1,33	+1,32	+1,30	+1,28	+1,26	
37	+1,41	+1,42	+1,43	+1,44	+1,44	+1,44	+1,44	+1,44	+1,43	+1,42	+1,40	+1,38	+1,36	+1,34	
38	+1,51	+1,52	+1,53	+1,53	+1,54	+1,54	+1,53	+1,53	+1,52	+1,51	+1,49	+1,47	+1,45	+1,42	
39	+1,61	+1,62	+1,62	+1,63	+1,63	+1,63	+1,63	+1,62	+1,61	+1,60	+1,58	+1,56	+1,53	+1,50	
40	+1,71	+1,72	+1,72	+1,73	+1,73	+1,73	+1,72	+1,71	+1,70	+1,69	+1,67	+1,64	+1,62	+1,59	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azúcar de uva

TABLA 3

**Correcciones de la conductividad para las temperaturas diferentes
de 20°C, en μ Siemens cm^{-1}**

		Temperaturas									
		20,2	20,4	20,26	20,8	21,0	21,2	21,4	21,6	21,8	22,0(1)
		19,8	19,6	19,4	19,2	19,0	18,8	18,6	18,4	18,2	18,0(2)
Conductividad											
0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50		0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
100		0	1	1	2	2	3	3	3	4	4
150		1	1	2	3	3	4	5	5	6	7
200		1	2	3	3	4	5	6	7	8	9
250		1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
300		1	3	4	5	7	8	9	11	12	13
350		1	3	5	6	8	9	11	12	14	15
400		2	3	5	7	9	11	12	14	16	18
450		2	3	6	8	10	12	14	16	18	20
500		2	4	7	9	11	13	15	18	20	22
550		2	5	7	10	12	14	17	19	22	24
600		3	5	8	11	13	16	18	21	24	26

(1) Substraer la corrección

(2) Añadir la corrección

ANEXO II (azúcares).

CONDUCTIVIDAD

1. APARATO

Conductímetro que permite una gama de medidas entre 1 y 1000 micro-Siemens por cm.

2. MATERIAL

Matraces aforados de 200 ml

Baño de agua para llevar las muestras a alrededor de 20°C

3. REACTIVOS

Agua : la conductividad específica debe ser inferior a 2 micro-Siemens por cm.

Solución KCl de referencia (R).

4. MODO DE OPERAR

Llevar la solución a analizar a 20°C por inmersión en el baño de agua. Enjuagar dos veces la célula de medición del conductímetro con la solución a examinar. Medir la conductividad expresada en micro-Siemens por cm a $20 \pm 0,1^\circ$ C.

5. CALCULO

5.1 Corrección de temperatura

Si el aparato no está provisto de un compensador de temperatura, se corrige la conductividad obtenida por medio de la tabla n°3. (**ANEXO I (azúcares).**)

Si la temperatura es inferior a 20°C, añadir la corrección.

Si la temperatura es superior a 20°C, sustraer la corrección.

5.2 Corrección del agua

La mitad de la conductividad, medida a 20°C, del agua utilizada para la dilución, debe sustraerse de la conductividad de la muestra preparada.

ANEXO III (azúcares).

**BUSQUEDA DE LA SACAROSA EN EL AZUCAR DE UVA
POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA**

1. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La sacarosa es separada de los otros azúcares por cromatografía en capa fina y revelada por el reactivo urea-ácido clorhídrico.

2. MATERIALES Y REACTIVOS :

- placas para cromatografía recubiertas de una capa fina de celulosa (espesor 0,1 mm)
- fase móvil: cloruro de metileno+ ácido acético+ etanol+ metanol + agua (50 + 25 + 9 + 6 + 10)
- revelador: urea : 5 g + 20 ml HC1 2 M + 100 ml etanol
- solución de referencia conteniendo para 1 litro:

glucosa	160 g
fructosa	160 g
sacarosa	0,8 g

3. PREPARACION DE LA MUESTRA

Utilizar la solución principal I (3.1.1) (200 g de azúcar de uva llevados al volumen de 500 ml con agua).

4. CROMATOGRAFIA

- A 2,5 cm del borde inferior de la placa poner:
 - 0,5 µl de la muestra
 - 0,5 µl de la solución de referencia

Colocar la placa en la cubeta para cromatografía saturada por los vapores de la fase móvil y dejar migrar el líquido hasta 1 cm del borde superior. Retirar la placa y secarla bajo una corriente de aire caliente. Repetir dos veces la migración secando cada vez la placa.

Pulverizar uniformemente la placa con 15 ml de revelador, y mantenerla en la estufa a 100 °C durante 5 minutos.

La sacarosa y la fructosa aparecen bajo forma de manchas de color naranja.

DIÓXIDO DE AZUFRE LÍQUIDO
Amhídrido sulfuroso líquido
Sulfuris dioxydum solutum
SO₂ = 64,07
N° SIN: 220
(Oeno 46/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El dióxido de azufre es un gas incoloro, no inflamable, de olor picante, sofocante. Se conserva y transporta en estado líquido en recipientes de acero resistentes. Esas soluciones son inestables y no deben contener menos de 50 g/l de SO₂.

A 20°C, se encuentra en estado líquido a la presión de 3,36 kg por centímetro cuadrado, es decir, 3,30 bares.

Su punto de ebullición a presión normal es de -10°C. La masa volúmica $\rho_{20} = 1,383$.

Es un producto comprendido en la categoría de los agentes conservantes con una acción antiséptica y antioxidante. Su contenido en vinos está sometido a los límites fijados por la reglamentación en vigor.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar el contenido de SO₂ en el momento de la puesta en venta y las condiciones de conservación y seguridad.

3. SOLUBILIDAD

Agua a 0°C: 79,79 l de dióxido de azufre a presión normal por litro de agua.

Agua a 20°C: 39,37 l de dióxido de azufre a la presión normal por litro de agua.

Alcohol de 95% vol. a 20°C: 114,48 l de dióxido de azufre por litro de agua.

Hidrocarburos, cuerpos grasos y otros compuestos orgánicos: soluble

4. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

4.1 El dióxido de azufre ennegrece un papel de filtro impregnado con nitrato de mercurio (I).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azufre (dióxido de)

4.2 El dióxido de azufre azulea un papel de filtro impregnado con yodato potásico y engrudo de almidón. Enseguida, la coloración azul desaparece por reducción del yodo inicialmente liberado.

4.3 El hidróxido de azufre presenta un fuerte olor característico.

5. ENSAYOS

5.1 Sustancias volátiles

En un matraz de 500 ml previamente tarado, recoger una cantidad de dióxido de azufre líquido de 200 ml. Pesar e el recipiente inmediatamente después, siendo **p** g la masa obtenida. Dejar que se evapore espontáneamente el dióxido de azufre tomando la precaución de no inhalar sus vapores sofocantes. Después del recalentamiento del recipiente y la eliminación del dióxido de azufre gas que aún contuviese, pesar el matraz que contenga el eventual residuo de la evaporación. La masa de este residuo debe ser inferior a 0,01 p. 100.

5.2 Preparación de la solución para los ensayos

Añadir 2 ml de ácido nítrico concentrado (R) y 5 ml de agua al residuo obtenido por evaporación de los 200 ml de dióxido de azufre (5.1). Ponerlo en un baño de agua a 100°C durante 5 minutos. El volumen restante se lleva a 200 ml. Con agua.

5.3 Cobre

Coger una muestra de ensayo de la solución preparada para los ensayos (5.2) correspondiente a 1 g de dióxido de azufre líquido; completar hasta 10 ml con agua destilada y añadir 0,5 ml de solución clorhídrica de 10 p. 100 (v/v) de ácido cítrico de 15 p. 100 (m/v) (R), 1 ml de solución de hidróxido amónico 5 M (R) y 0,5 ml de solución de dietilditiocarbamato de sodio de 1 p. 100 en alcohol al 40% vol. (R). Si aparece una coloración amarilla debe ser menos intensa que la obtenida añadiendo a 1 ml de una solución de cobre de 0,01 g por litro (R), 9 ml de agua, 0,5 ml de solución de ácido clorhídrico de 10 p. 100 (v/v) de ácido cítrico de 15 p. 100 (m/v) (R), 1 ml de solución de hidróxido amónico 5 M (R), y 0,5 ml de solución de dietilditiocarbamato sódico de 1 p. 100 en alcohol al 40% vol. (R). (Contenido en cobre, inferior a 10 mg/kg).

5.4 Hierro

Coger una muestra de ensayo de la solución preparada para análisis (5.2) correspondiente a 1 g de dióxido de azufre líquido;

completar con 5 ml de agua. Añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), una gota de solución de permanganato potásico de 1 p. 100 (R) y 5 ml de una solución de tiocianato potásico de 5 p. 100 (R). Si aparece una coloración roja, debe ser menos intensa que la de un blanco preparado con 5 ml de una solución de hierro de 0,010 g por litro (R) y las mismas cantidades de ácido clorhídrico y de tiocianato. (Contenido inferior a 50 mg/kg).

El hierro puede igualmente ser determinado por espectrofotometría de absorción atómica según el método del "Recueil".

5.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2), determinar el plomo según el método descrito por el "Recueil". (Contenido inferior a 5 mg/kg).

Es igualmente posible determinar el plomo por espectrofotometría de absorción atómica, según el método descrito en el "Recueil".

5.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2), determinar el mercurio según el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

5.7 Selenio

Coger en un tubo de ensayo, un volumen de la solución preparada para los ensayos (5.2), correspondiente a 1,5 g de dióxido de azufre, completar a 2 ml con agua. Añadir 8 ml de ácido clorhídrico diluido a 30 p. 100 (R) y 50 mg de sulfito potásico anhidro en polvo (R) del que se ha verificado que está exento de selenio. Después de la disolución, colocar el tubo en un baño de agua a 100°C. Después de 15 minutos, examinar la coloración del tubo.

Si aparece una coloración rosa, no debe ser más intensa que la de un tubo con un blanco preparado añadiendo a 0,15 ml de una solución de dióxido de selenio de 100 mg de selenio por litro (R), 1,85 ml de agua, 8 ml de ácido clorhídrico de 10 p. 100 (R) y 50 mg de sulfito potásico anhidro en polvo, exento de selenio y colocando, después de su disolución, el tubo en un baño de agua a 100°C durante 15 minutos. (Contenido en selenio inferior a 10 mg/kg).

5.8 Arsénico

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Azufre (dióxido de)

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2) determinar el arsénico según el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 3 mg/kg).

6. CONSERVACIÓN

El dióxido de azufre debe ser conservado en estado líquido en cilindros metálicos, provistos de un grifo de punzón o de pistón, cuya resistencia debe ser controlada periódicamente. Dejar los recipientes en un lugar fresco.

BACTERIAS LACTICAS
(Oeno 15/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Las bacterias lácticas son utilizadas en enología para efectuar la fermentación maloláctica. Dichas bacterias deben pertenecer a los tipos *Oenococcus* (*Leuconostoc*), *Lactobacillus* y *Pediococcus* y deben haber sido aisladas de las uvas, los mostos o de los vinos o cultivos derivados del cruzamiento de estas mismas bacterias (cultivos madres originales) que deben ser conservadas en condición de estabilidad genética.

La obtención y la utilización de bacterias genéticamente modificadas (O.G.M.) deben haber sido objeto de una autorización previa de una autoridad competente.

Una bacteria láctica utilizable en enología debe transformar el ácido málico del mosto o del vino en ácido láctico y en dióxido de carbono, no debe producir aminas biógenas, a menos que sea en cantidades mínimas y no debe transmitir gusto extraño ni producir sustancias nocivas para la salud humana.

2. ETIQUETADO

Deben figurar sobre la etiqueta:

- El nombre del género y de la especie, así como la referencia de la(s) cepa(s) atribuida(s) por un organismo oficial de registro de los microorganismos o por instancias internacionales, el seleccionador, el origen y el seleccionador de la cepa y eventualmente el autor que realizó su aislamiento.
- Las instrucciones de uso o el método de reactivación y los eventuales aditivos preconizados por el fabricante.
- La cantidad de células revivificables por gramo de preparación que es garantizada por el fabricante, la pérdida de viabilidad por mes de conservación en las condiciones definidas de temperatura, humedad y aereación, así como el número de lote, la fecha límite de utilización y las condiciones de conservación.
- La indicación de que las bacterias lácticas fueron obtenidas por modificaciones genéticas y también la característica modificada (si es el caso).

3. CARACTERISTICAS

Son utilizadas, ya sea bajo forma líquida, o bajo forma congelada, o bajo forma de polvo obtenido por liofilización o secado, en cultivo puro o en asociación de cultivos puros.

4. LIMITES Y METODOS DE ENSAYO

4.1 – Humedad

Medida por la pérdida de peso de 5 g de producto, secado a 105 °C hasta peso constante (alrededor de 3 horas)
El contenido máximo debe ser inferior a 8%.

4.2 – Metales pesados

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido debe ser inferior a 10 mg/kg de materia seca, expresada en plomo.

4.3 – Plomo

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido debe ser inferior a 5 mg/kg de materia seca.

4.4 – Mercurio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.5 - Arsénico

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido debe ser inferior a 3 mg/kg de materia seca.

4.6 – Cadmio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.7 - Micotoxinas¹

4.8 – Bacterias lácticas revivificables

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser superior o igual a 10^8 UFC/g o 10^7 UFC/ml.

4.9 – Contenido de células revivificables de bacterias lácticas de una especie diferente de la o las cepas indicadas ²

4.10 – Mohos

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

El contenido debe ser inferior 10^3 UFC/g de polvo.

4.11 - Bactéries acétiques contaminantes

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10^3 UFC/g de polvo o 10^3 UFC/ml. La suma *Acetobacter* + *Glucobacter*

4.12 – Levaduras

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

La cantidad de células revivificables de levaduras contaminantes (como por ejemplo *Schizosaccharomyces* o *Brettanomyces*) totales debe ser inferior a 10^3 UFC/g de polvo o 10^3 UFC/ml.

4.13 – Salmonellas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

Su ausencia debe ser controlada en una muestra de 25 g.

¹ Punto que será estudiado ulteriormente por la Subcomisión de los métodos de análisis y de apreciación de los vinos.

² Punto que será estudiado por el grupo de expertos "Microbiología del vino"

4.14 - *Pseudomonas aeruginosa*³

4.15 - *Escherichia coli*

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

Su ausencia debe ser controlada en una muestra de 1 g.

4.16 – Estafilococos

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

Su ausencia debe ser controlada en una muestra de 1 g.

4.17 – Coliformes

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10 UFC/g.

5. ADITIVOS

Deben ajustarse a las normativas en vigor.

6 – CONSERVACION

No conservar en acondicionamiento abierto y/o a temperaturas superiores a 10 °C.

Las condiciones de conservación varían según los modos de preparación y de acondicionamiento

En todos los casos, referirse a las prescripciones del fabricante.

³ El punto será estudiado ulteriormente por el grupo de expertos
« Microbiología del vino »

BENTONITAS
Bentonita
Nº SIN : 558
(Oeno 11/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Las bentonitas son silicatos de aluminio hidratados pertenecientes al grupo de las montmorillonitas de fórmula bruta:

$Si_4 (Al (2-x) R_x) (O_{10}, H_2O)(Ce_x, nH_2O)$ ou $Si_4(Al(2-x)R_x)(H_2O)_n$
con:

- R = Mg, Fe, Mn, Zn, Ni
- Ce (cationes intercambiables) = Ca, Na, Mg.

Las mismas son utilizadas para operaciones de clarificación o de estabilización proteica de los mostos y de los vinos. Las bentonitas fijan ciertas proteínas inestables y permiten así su eliminación. Son capaces de fijar la materia colorante.

2. ETIQUETADO

La etiqueta deberá indicar la naturaleza de la bentonita (sódica natural, cálcica, cálcica activada), el número de lote y la fecha límite de utilización óptima (DLUO) en lo que concierne las bentonitas activadas. Deberán igualmente figurar la mención de los riesgos posibles y de seguridad relativa relativas a la presencia de silicio cristalino.

2.1 Bentonitas naturales:

En función de la naturaleza del catión intercambiable presente, existen en estado natural dos tipos de bentonitas:

- las **bentonitas sódicas**, en las cuales el sodio es el catión intercambiable mayoritario y tienen un fuerte poder de expansión y de adsorción.
- las **bentonitas cálcicas**, en las cuales el calcio es el catión intercambiable mayoritario y tienen un poder de expansión y de adsorción menor en comparación con las bentonitas sódicas.

Estos dos tipos de bentonitas, eventualmente luego de un secado a 80-90 °C, son simplemente molidas antes de su comercialización.

2.2 Bentonitas activadas :

Con la finalidad de mejorar las propiedades de adsorción de las bentonitas cálcicas, estas últimas son generalmente activadas por medio de carbonato de sodio, luego secadas y molidas; se obtienen así bentonitas cálcicas activadas, cuyas propiedades son iguales o superiores a las de las bentonitas sódicas.

Las propiedades de las bentonitas así activadas o permutadas son menos estables en el tiempo (3 a 18 meses) y dependen de la activación y de los índices de magnesio, calcio y sodio.

Estos diferentes tipos de bentonitas se presentan bajo forma de polvo o de granulados esféricos o cilíndricos. Ellas tienen colores muy variables que van del blanco para los productos más puros hasta el gris, beige o verde para los otros.

3. ENSAYOS

3.1 Olor

La bentonita no debe presentar olor indeseable (p.e. moho) y no debe transmitir gusto alguno al vino.

3.2 Medida del pH

Agitar 5 g de bentonita con 100 ml de agua destilada durante 5 minutos. Después de una hora de reposo, medir el pH del líquido que sobrenada. Las bentonitas cálcicas naturales tienen un pH vecino de la neutralidad (entre 6,5 y 8,5). Las bentonitas sódicas naturales o cálcicas activadas tienen un pH netamente alcalino (entre 8,5 y 10,0).

3.3 Pérdida en la desecación

Por desecación de 5 g de bentonita a 105 °C durante 4 horas, la pérdida de peso debe estar comprendida entre 5 y 15 p. 100 del peso inicial (corrientemente cercano a un 10 p. 100).

3.4 Preparación de la solución para ensayos

Pesar **p** g de bentonita conteniendo 10 g de bentonita anhídrica. En un frasco de cuello largo de 500 ml, que pueda ser cerrado herméticamente, colocar 100 ml de la solución de ácido tártrico de 5 g por litro llevada a pH 3 (R). Verter en lluvia la toma para ensayo de bentonita en la solución constantemente agitada (por ejemplo con un agitador magnético) con ayuda de un embudo. Una vez terminada esta adición, agitar enérgicamente durante 5

minutos. Dejar reposar 24 o 48 horas. Decantar, centrifugar o filtrar si es necesario, para obtener al menos 100 ml de líquido claro.

Todos los límites fijados para la bentonita que aparecen a continuación se refieren al peso de la bentonita seca.

3.5 Contenido en montmorillonita

Contenido mínimo:

No debe ser inferior a 80 %, resultado dado por el fabricante (método de difracción por rayos X).

3.6 Contenido en diferentes formas de silicio libre

Contenido en silicio cristalino (cuarzo N° CAS 14808-60-7, cristobalita N° CAS 14464-46-1) debe ser inferior a 3 p.100

El contenido de partículas inferiores a 10 micrones debe ser inferior a 10%

El contenido en silicio cristalino respirable debe ser inferior a 0,3%

Estas normas deben figurar en la ficha de seguridad entregada por el fabricante.

3.7 Plomo

En la solución preparada para ensayos según (3.4), realizar la dosificación sirviéndose del método descrito en el Capítulo II.

El contenido en plomo soluble debe ser inferior a 5 mg/kg.

3.8 Mercurio

En la solución preparada para ensayos según (3.4) determinar el contenido en mercurio según el método descrito en el Capítulo II.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

3.9 Arsénico

En 5 ml de la solución preparada para ensayos según (3.4), buscar el arsénico por medio del método descrito en el Capítulo II.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 2 mg/kg.

3.10 Hierro

A 5 ml de solución preparada para ensayos según (3.4), agregar 12,5 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de solución de tiocianato de potasio a 5 p. 100 (R). La coloración

roja debe ser inferior a aquella que se obtiene utilizando 2,5 ml de ácido cítrico a 5 p. 100 con pH 3 (R), 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), 15 ml de solución de una sal de hierro(III) a 0,010 g de hierro por litro (R) y 2 ml de solución de tiocianato de potasio a 5 p. 100 (R).

El contenido en hierro debe ser inferior a 600 mg/kg.

El hierro puede igualmente ser dosificado por espectrometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II.

3.11 Aluminio

En la solución preparada para ensayos según (3.4), buscar el aluminio extraíble según el método descrito en el Capítulo II

El contenido en aluminio extraíble debe ser inferior a 2,5 g/kg.

3.12 Calcio y magnesio

En la solución preparada para ensayos según (3.4), dosificar el calcio y el magnesio según los métodos que figuran en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y los mostos.

La suma calcio + magnesio soluble debe ser inferior a 100 meq por 100 g.

3.13 Sodio

En la solución preparada para ensayos según (3.4), dosificar el sodio según el método del Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y los mostos (R). El contenido de sodio soluble debe ser inferior a 10 g/kg naturales e inferior o igual a 35 g/kg para las bentonitas activadas.

3.14 Presencia de partículas gruesas

Colocar 1 l de agua en una copa de 1,5 l. Agregar lentamente y agitando sin cesar 50 g de bentonita seca. Agitar enérgicamente durante 2 o 3 minutos y dejar reposar 24 horas. Agitar 2 o 3 minutos, dejar reposar 2 minutos. Evacuar por un sifón los 9/10 del líquido turbio que supera los 100 ml de líquido y el depósito se deja en el fondo de la copa. Agregar 900 ml de agua, agitar 1 minuto. Dejar reposar 2 minutos y recomenzar así hasta haber hecho 5 lavados. Recoger el depósito en una cápsula. Secar y pesar. El residuo debe ser inferior a 8 g por 100 g.

3.15 Ensayo de desacidificación

Pesar una cantidad **p** de bentonita conteniendo 0,2 g de bentonita seca. Introducirla en un frasco de 125 ml conteniendo 50 ml de solución 0,033 M de ácido cítrico (R). Agitar

enérgicamente durante 5 minutos y dejar en reposo durante 30 minutos. Filtrar o centrifugar. Extraer 10 ml de filtrado y titular la acidez con la solución 0,1 M de hidróxido de sodio en presencia de una gota de solución de fenolftaleína (R). O sea n ml el volumen vertido para obtener viraje del indicador:

250 (10 - n) es el número de miliequivalentes ácidos fijados o neutralizados por 100 g de bentonita.

El límite máximo es de 2,5 eq /kg.

3.16 Índice de expansión

Índice de expansión: test específico necesario (2 g de bentonita es espolvoreada sobre 100 ml de agua desmineralizada y sobre 100 ml de vino colocados en una probeta graduada. Después de 24 horas, se mide el volumen ocupado por la bentonita. Este último será expresado en ml/g de producto seco.

3.17 Ensayo de adsorción de proteínas (para las bentonitas destinadas a la desproteínización) :

3.17.1 -Preparación de la solución para ensayos:

mezclar 5 g de clara de huevo con una cantidad suficiente de solución de ácido cítrico a 5 g por litro (pH= 3) para obtener 1 litro. Filtrar. Dosificar el nitrógeno total en 100 ml de esta solución según el método descrito en el Capítulo II. Esta solución contiene alrededor de 90 mg de nitrógeno total, es decir 575 mg de proteínas por litro.

3.17.2 - A 100 ml de esta solución, para cada ensayo, agregar dosis cada vez mayores de bentonitas preparadas en suspensión a 5 %, de manera tal que se puedan tratar dosis de 0,1 à 0,8 g/l. Agitar vigorosamente y mantener a 15-20 °C durante 6 horas. Centrifugar y proceder a la dosificación del nitrógeno total o de las proteínas residuales.

Una bentonita de calidad desproteínizante debe eliminar al menos 50 % de las proteínas de la solución sintética en la dosis de 0,4 g/l .

3.18 Determinación de la superficie específica de adsorción (o índice de adsorción del azul de metileno)

Método descrito en anexo.

El límite de aceptación debe ser de 300 mg/100 g

4. CONSERVACION

Las bentonitas deben ser conservadas en lugares ventilados en recipientes herméticos al abrigo de elementos volátiles que podrían absorber.

ANEXO
DETERMINACION DE LA SUPERFICIE ESPECIFICA DE ADSORCION
DE LA BENTONITA

1. GENERALIDADES

1.1 Finalidad del ensayo

Este ensayo permite medir la capacidad de la bentonita para adsorber el azul de metileno.

Como el azul de metileno es adsorbido preferentemente por las arcillas, las materias orgánicas y los hidróxidos de hierro, esta capacidad da cuenta globalmente de la actividad de superficie de estos elementos.

Se llama "valor de azul" de la bentonita a la cantidad, expresada en gramos de azul de metileno, adsorbida por 100 g de bentonita.

1.2 Principio del ensayo

Se inyectan sucesivamente dosis elementarias de una solución de azul de metileno en el baño acuoso conteniendo la toma de ensayo. Se controla la adsorción del azul después de cada agregado, efectuando una mancha sobre un papel filtro (test de la mancha, ver párrafo 5).

Para un simple control de conformidad, la cantidad de azul especificada es inyectada en una sola vez.

2. APARATOS Y REACTIVO

2.1 Una bureta de capacidad 25 ml y de graduación 1/10 ml

2.2 Papel filtro : cuantitativo y sin cenizas (< 0,010) ; gramaje: 95 g/m² ; espesor: 0,20mm ; velocidad de filtración 75 ; retención: 8 micrómetros.

2.3 Una varilla de vidrio: largo 300 mm ; diámetro 8 mm.

2.4 Un agitador magnético y barra imantada

2.5 Solución de azul de metileno de calidad medicinal a 10 g/l ± 0,1 g/l

La duración máxima de utilización de la solución es de un mes y debe ser conservada al abrigo de la luz.

2.6 Agua desmineralizada o destilada.

3. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA ENSAYO

Agregar 10 g de bentonita en 200 ml de agua destilada, dejar expandir durante 2 horas, luego homogeneizar por medio de la agitación.

4. REALIZACION DEL ENSAYO

4.1 Definición del test de la mancha

Después de cada adición de azul, el test consiste en extraer, con ayuda de la varilla de vidrio, una gota de suspensión que se deposita sobre el papel filtro. La mancha así formada se compone de un depósito central de material, coloreado de un azul generalmente fuerte, rodeado de una zona húmeda incolora.

La gota extraída debe ser tal que el diámetro del depósito esté comprendido entre 8 y 12 mm.

El test es considerado positivo si, en la zona húmeda, aparece alrededor del depósito central una aureola azul claro persistente. Es negativo si la aureola es incolora.

4.2 Dosificación

Con ayuda de la bureta, verter 2 mililitros de solución de azul en el recipiente que contiene los 200 ml de suspensión de bentonita mantenida en agitación. Después de 2 mn, agregar una dosis de 1 ml de solución de azul, adición que será seguida del test de la mancha sobre el papel filtro.

Se deja operar la adsorción de azul, que no es instantánea, efectuando tests de minuto en minuto.

Si la aureola azul claro desaparece a la quinta mancha, se procede a nuevas adiciones elementarias de azul de 0,2 ml. Luego de 0,1 ml.

Cada adición es seguida de tests efectuados siempre de minuto en minuto.

Renovar estas operaciones hasta que el test permanezca positivo durante cinco minutos consecutivos: la dosificación se considera entonces terminada. O sea V ml vertidos.

5. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

5.1 Valor de azul

El valor de azul expresada en valor de azul por 100 g de bentonita es dada por la fórmula:

$$V \times 10$$

V siendo el volumen de azul de metileno vertido en ml.

5.2 Control de conformidad en relación a una especificación dada

La especificación es expresada en valor de azul por 100 g de finos, es decir s este valor.

El volumen de la solución de azul a agregar en una sola vez a la preparación es entonces:

$$V = \frac{S}{10}$$

El test de la mancha se efectúa luego de ocho minutos de agitación. Si es negativo, la bentonita es conforme a la especificación

CALCIO (CARBONATO DE)
Calcii carbonas
Ca CO₃ = 100,1
N° SIN:170
(Oeno 20/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto utilizado para la desacidificación. El aporte de iones calcio provoca la salificación del ácido tartárico libre. El carbonato de calcio está también autorizado en la técnica de desacidificación por el método llamado de "doble-sal"; en ese caso puede contener pequeñas cantidades de tartrato de calcio (sal-doble) y/o tartrato de calcio. Existe una reglamentación en cuanto a la utilización del producto.

2. ETIQUETADO

El contenido en carbonato de calcio puro debera estar indicado así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Dióxido de carbono	43,97
Calcio	40,04

4. CARACTERÍSTICAS

El carbonato de calcio se presenta bajo forma de un polvo blanco que da las reacciones de los carbonatos. Su solución del 5 p. 100 (m/v) en ácido acético diluido (R) da las reacciones del calcio.

5. SOLUBILIDAD

Insoluble en agua
Insoluble en alcohol del 95 % vol.
Soluble con efervescencia en las soluciones diluidas de ácidos acético clorhídrico y nítrico.

6. ENSAYOS

6.1 Pérdida por desecación

Pesar 2 g de carbonato de calcio en una cápsula. Colocarla en una estufa a 200°C durante 4 horas. La pérdida de peso no debe ser superior al 2 p. 100.

6.2 Materias solubles en agua

Triturar 2 g de carbonato de calcio con 20 ml de agua hervida; filtrar; recoger 10 ml. la solución debe ser neutra. Evaporar a sequedad ; el residuo no debe ser superior a 1 p. 100.

6.3 Iones amoniacales

En el matraz de un aparato de destilación, colocar 2 g de carbonato de calcio, 25 ml de agua destilada y 5 ml de una solución de hidróxido de sodio al 30 p. 100 (R).

Destilar y recoger 20 ml de destilado en 40 ml de ácido bórico al 4 p. 100 (R) en presencia de rojo de metilo (R). Dos gotas de solución 0,1 M de ácido clorhídrico deben ser suficiente para hacer virar el indicador.

6.4 Bario

Disolver 0,50 g de carbonato de calcio en 10 ml de ácido nítrico diluido al 10 p.100 (R). Añadir 10 ml de solución saturada de sulfato de calcio (R). La mezcla debe permanecer límpida.

6.5 Preparación de la solución para los ensayos.

Disolver 10 g de carbonato de calcio en 100 ml de ácido acético diluido al 10 p. 100 (m/v) (operar con precaución a causa de la efervescencia debida al desprendimiento de dióxido de carbono)

6.6 Magnesio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5), utilizar el método que figura en el "Recueil". (Contenido inferior a 1 p. 100 en peso).

6.7 Hierro

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5), utilizar el método por espectrometría de absorción atómica que figura en el "Recueil" (Contenido inferior a 300 mg/kg).

6.8 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5), cuantificar el plomo con ayuda del método que figura en el anexo. (Contenido inferior a 5 mg/kg).

6.9 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5), utilizar el método que figura en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Calcio (carbonato de)

6.10 Arsenico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5) medir el arsénico de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 3 mg/kg).

6.11 Sodio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.5), medir el sodio por fotometría de llama de acuerdo con el método que figura en el "Recueil" (Contenido en sodio inferior a 500 mg/kg).

6.12 Cuantificación

Disolver una alícuota **p**, exactamente pesada, cercana a 2 g en 50 ml de solución 1 M de ácido clorhídrico. Llevar a ebullición. Dejar enfriar y valorar el exceso de ácido clorhídrico con una solución de hidróxido sódico 1 M en presencia de rojo de metilo (R).

Sea **n** el número de mililitros de solución de hidróxido de sodio 1 M empleados:

1 ml de solución molar de ácido clorhídrico corresponde a 0,05005 g de carbonato de calcio.

Contenido p. 100 en carbonato de calcio del producto analizado

$$\frac{(50 - n) 5,005}{p}$$

El producto enológico debe contener un mínimo del 98 p. 100 de carbonato de calcio.

7. CONSERVACIÓN

El carbonato de calcio debe conservarse al abrigo de la humedad, en recipientes herméticamente cerrados al abrigo de sustancias volátiles que puede absorber.

CALCIO (FITATO DE)
Inosito-hexafosfato de calcio
Calcii phytas
C₆H₆Ca₆O₂₄P₆, 3H₂O = 942,11
(Oeno 21/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El fitato de calcio es la sal del ester hexanofosforico de inositol o ácido inositohexafosforico o ácido fítico

Bajo la forma de sal doble de calcio y de magnesio, el ácido fítico constituye la fitina, forma de reserva del fósforo en las plantas.

Agente complejante del hierro (III) autorizado para eliminar un exceso de hierro en los vinos su empleo debe ser seguido de un control riguroso.

Todo exceso de fitato en relación con el contenido en hierro (III) provoca depósitos a la menor oxidación.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Polvo blanco de sabor acidulado, poco soluble en agua, difícil e incompletamente soluble en vino, soluble en ácidos fuertes diluidos.

La solución acuosa de fitato de calcio presenta un carácter ácido que se manifiesta por el viraje del indicador al tornasol, da las reacciones del calcio.

4. ENSAYOS

4.1 Pérdida por desecación

Desecar en la estufa a 105°C hasta peso constante una alícuota cercana a 1 g de fitato de calcio. La pérdida de peso debe ser inferior a 12 p. 100.

Los límites fijados a continuación se expresan sobre producto seco

4.2 Cenizas

Incinerar aproximadamente a 550°C una alícuota de 0,250 g de fitato de calcio; el residuo no debe ser inferior a 65 p. 100, ni superior a 72 p. 100 del producto seco contenido en la alícuota.

4.3 Sustancias insolubles

Preparar una primera solución conteniendo 1 g de fitato de calcio, 7 ml de solución de ácido clorhídrico 1M y 93 ml de agua destilada. Por otra parte preparar una solución que contenga 1 g de fitato de calcio con 50 ml de agua destilada y 1,5 ml de ácido fosfórico puro (R), filtrar por separado cada una de las soluciones así obtenidas y recoger el depósito, lavarlo y secarlo a 100°C. Cada residuo debe ser inferior a 1 parte por 100 (10g/kg) de producto secado a 105°C.

4.4 Almidón

Añadir al residuo obtenido en el ensayo anterior algunas gotas de agua yodada (R); no se debe desarrollar coloración azul.

4.5 Azúcares

Agitar 3 g de fitato de calcio con 15 ml de agua destilada. Filtrar. El filtrado no debe reducir el reactivo cupro alcalino (R) tanto antes como después de la inversión de la sacarosa.

4.6 Albúmina

Disolver 1 g de producto en una mezcla de 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y de 3 ml de agua destilada. Añadir 3 ml de solución de hidróxido de sodio al 30 % (R). Filtrar. El filtrado no debe adquirir coloración violeta cuando se le adiciona una gota de solución de sulfato de cobre(II) al 4 p. 100 (m/v).

4.7 Preparación de la solución para los ensayos

Hacer macerar una cantidad de fitato de calcio que contenga 5 g de producto seco con 100 ml de ácido cítrico de 10 g por litro (R) durante 24 horas agitando de vez en cuando. Filtrar.

4.8 Hierro 25 o26

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (4.7), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R). La coloración obtenida debe ser inferior a la que presenta un tubo testigo preparado con 2,5 ml de solución

al 0,010 g de hierro por litro (R), 7,5 ml de agua destilada, 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de 5 tiocianato al 5 p. 100 (R). (Contenido en hierro inferior a 50 mg/kg).

4.9 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.7), cuantificar el plomo con ayuda del método que figura en el "Recueil". (Contenido inferior a 5 mg/kg).

4.10 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.7), cuantificar el mercurio utilizando el método que figura en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

4.11 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.7) buscar el arsénico de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 3 mg/kg).

4.12 Fosfatos minerales

En un matraz aforado de 200 ml, introducir 0,50g de fitato de calcio, añadir 100ml de agua destilada, 5 ml de ácido nítrico concentrado (R). Agitar 15 minutos a 20°C y enrasar con agua destilada. A 10 ml de esta solución, añadir 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). Dejar en contacto 15 minutos a 20°C; la coloración no debe ser más intensa que la obtenida añadiendo a 5 ml de una solución de fosfato monopotásico que contenga 0,05 g de fósforo por litro (R), 5 ml de agua destilada y 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R). (Contenido en fosfatos minerales, expresados en fósforo, inferior a 1 p. 100)

4.13 Glicerofosfatos.

Calentar 0,50 g de fitato de calcio en presencia de sulfato monopotásico; no se deben desprender vapores de acroleína (olor a cuerno quemado).

4.14 Determinación del fósforo total.

Pesar exactamente una alícuota de 0,25 g de fitato de calcio previamente desecado a 105°C. Introducirla en un matraz de fondo redondo al que se le pueda adaptar mediante un rodaje un tubo de 8 mm de diámetro y 1 mm de largo, que haga de refrigerante de reflujo; añadir 5 ml de ácido sulfúrico concentrado(R) y 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (R). Llevar a ebullición con reflujo durante un cuarto de hora aproximadamente. Después de dejarlo enfriar, transvasar el contenido del matraz diluido con agua a un matraz aforado de un litro. Lavar el refrigerante y el matraz con agua recogiendo los líquidos de lavado en el matraz aforado y enrasar una vez llevado a 20°C. Agitar.

A 10 ml de esta solución, añadir 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R), agitar en un baño de agua a 20°C y dejar en reposo durante 15 minutos en el baño de agua. La coloración obtenida debe ser igual o superior a la de un ensayo de referencia preparado en las mismas condiciones con 8 ml de solución de fosfato monopotásico de 0,05 g de fósforo por litro (R), 2 ml de agua y 10 ml de reactivo nitro-vanadomolibdico (R).

La determinación del fósforo total puede ser realizada mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 425 nm, la curva patrón se obtiene a partir de 4-6-8-10 ml de solución de fosfato monopotásico de 0,05 g de fósforo por litro (R).

El fitato de calcio debe contener al menos 15 p. 100 de fósforo total, sobre producto seco a 105°C.

5. CONSERVACIÓN

El fitato de calcio debe conservarse al abrigo de la humedad en recipientes cerrados herméticamente.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Calcio (tartrato)

CALCIO (TARTRATO)
Tartrato de calcio dextrogiro
Calcium tartaricum
L(+)-2,3-dihidroxiбутanodioato de calcio, tetrahidrato
(OOC-CHOH-CHOH-COO) Ca, 4H₂O)
C₄H₁₂O₁₀ Ca = 260,13
N° SIN: 354
(Oeno 22/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Sal natural del vino procedente esencialmente de los residuos vínicos. Se encuentra bajo la forma L(+). Habitualmente, cristaliza en forma de tetrahidrato.

El producto favorece la inducción de la precipitación del tartrato de calcio natural del vino por la técnica de siembra.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Acido tártrico	57,7
Calcio	15,4
Agua	27,9

4. CARACTERÍSTICAS

Polvo fino cristalino de color blanco a blanco crema. Insípido.
Punto de fusión 270°C.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	0,525 g/l
Alcohol a 95 % vol.	0,15 g/l
Éter etílico	0,01 g/l

6. ENSAYOS

6.1 Poder rotatorio

Disolver 1 g de sustancia en un litro de ácido clorhídrico 1 M.
Después de disolución total se encuentra.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20^{\circ}\text{C}} = + 7,2 \pm 0,2 \text{ grados}$$

El poder rotatorio es sensible a pequeñas variaciones de pH.

6.2 pH en solución saturada

Introducir 1 g de producto en 100 ml de agua destilada. Después de agitación durante una hora y de que el producto se haya depositado de nuevo (15 minutos), se debe observar un aumento del pH comprendido entre 1,5 y 2,5 unidades de pH.

6.3 Perdida por desecación

Desecar en la estufa a una temperatura comprendida entre 100°C y 105°C hasta peso constante una alícuota exactamente pesada cercana a 1 g, la pérdida de peso debe ser inferior o igual al 2,5 p. 100.

6.4 Preparación de la solución para ensayos

Disolver una alícuota exactamente pesada cercana a 1 g en 100 ml de ácido clorhídrico 1M.

6.5 Sulfatos

Tomar 10 ml de la solución preparada para los ensayos (6.4) y añadir 1 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). Después de homogeneizar, dejar en reposo 15 minutos. No debe aparecer ninguna turbidez, o ésta debe ser menor a la de un testigo preparado según el método del anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1g/kg).

6.6 Metales pesados

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (6.4), añadir 0,5 ml de hidróxido amónico concentrado (R), 2ml de solución tampón pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (R). (Contenido en metales pesados, expresados en plomo, inferior a 10 mg/kg).

6.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4), cuantificar el plomo con ayuda del método que figura en el "Recueil". (Contenido inferior a 5 mg/kg).

6.8 Mercurio

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Calcio (tartrato)

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4), utilizar el método que figura en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

6.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6,4), buscar el arsénico de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 3 mg/kg).

6.10 Determinación de residuos básicos

Disolver una alícuota **p**, de tartrato de calcio tetrahidrato, exactamente pesada, cercana a 0,5 g en 25 ml de ácido clorhídrico 1 M (R). Llevar a ebullición con reflujo. Dejar enfriar y valorar el exceso de ácido clorhídrico con una solución de hidróxido sódico 1 M en presencia de rojo de metilo (R). Sea **n** el número de mililitros de solución de hidróxido de sodio 1 M empleados; 1 ml de solución molar de ácido clorhídrico corresponde a 0,05005 g de carbonato de calcio. Contenido p. 100 en carbonato de calcio del producto analizado:

$$\frac{(25 - n) \cdot 5,005}{p}$$

p

El producto enológico debe contener un máximo del 3 p. 100 de residuos básicos expresados en carbonato de calcio.

7. CONSERVACION

El tartrato de calcio debe ser conservado al abrigo de la humedad, en recipientes herméticamente cerrados.

CAOLÍN
Kaolinum
(Oeno 28/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El caolín es un silicato natural de aluminio hidratado y se utiliza como agente de clarificación de los vinos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza, y las condiciones de seguridad y de conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Polvo fino, blanco o blanco-amarillento, graso al tacto; la suspensión en agua caliente libera un olor arcilloso; es insoluble en agua y en ácidos diluidos.

El producto de la fusión alcalina del caolín redissuelto con agua da las reacciones propias de los aluminatos y silicatos alcalinos.

4. ENSAYOS

4.1. Consistencia

Mezclar 1 g de caolín con 1 ml de agua: la pasta obtenida no deberá gotear.

4.2. Pérdida de agua a 700°C

Incinerar a 700°C 1 g de caolín, la pérdida de peso no debe ser superior al 15%.

4.3. Productos solubles en ácidos diluidos

Disolver 1 g de caolín en 50 ml de solución 0,2 M de ácido clorhídrico, llevar a ebullición en reflujo durante 15 min y filtrar. El filtrado, evaporado y luego incinerado; no deberá dejar un residuo superior al 2%.

4.4. Preparación de la solución para los ensayos

Macerar durante 24 h 5 g de caolín con 100 ml de solución de ácido cítrico de 5 g/l y pH=3 (R) agitando de vez en cuando y posteriormente filtrar.

4.5. Hierro soluble

A 10 ml de solución preparada para los ensayos (4.4), añadir 1 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 5 ml de solución de tiocianato de potasio al 5% (R). La coloración obtenida debe ser inferior a aquella que presenta un tubo testigo preparado con 5 ml de solución de 0,01 g/l de hierro (R), 5 ml de ácido cítrico a 20 g/l (R), 1 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 5 ml de solución de tiocianato de potasio al 5% (R).

El contenido de hierro soluble debe ser inferior 100 mg/kg.

Observación: también es posible dosificar el hierro soluble por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el "Recueil".

4.6. Calcio

A 5 ml de la solución preparada para los ensayos (4.4), añadir 5 ml de oxalato de amonio en solución al 4% (R), 5 gotas de azul de bromofenol (R) e hidróxido amónico conc. (R), en cantidad suficiente para hacer virar el indicador hasta azul. No debe producirse ninguna turbidez.

4.7. Magnesio y aluminio soluble

A 5 ml de la solución preparada para los ensayos (4.4), añadir 5 ml de solución de fosfato de sodio al 10% (R), 1 gota de solución de fenoltaleína a 1 g/100 ml de alcohol al 90% vol (R) y hidróxido de amonio diluido (R) en cantidad suficiente para obtener una coloración rosa. No debe producirse ningún precipitado en menos de 1 h.

4.8. Plomo

En la solución preparada para los ensayos (4.4), dosificar el plomo según el método descrito en el "Recueil".

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

4.9. Mercurio

En la solución preparada para los ensayos (4.4), dosificar el mercurio según el método descrito en el anexo.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.10. Arsénico

En la solución preparada para los ensayos (4.4), dosificar el arsénico según el método descrito en el anexo.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

4.11. Evaluación de las partículas groseras

En una probeta de 250 ml, 40 mm de diámetro y cierre esmerilado; poner en suspensión 5 g de caolín con 60 ml de una

solución de pirofosfato tetrasódico al 1% (R) y agitar fuerte durante 1-2 min. Dejar reposar 5 min. Con ayuda de un sifón de vidrio de dos ramas (5 mm de diámetro y 2/5 realació de longitud) tomar 50 mL del sobrenadante de la sususpensión.

Al líquido restante ($\cong 10$ ml) añadir 50 ml de agua, agitar, dejar reposar 5 min y tomar de nuevo con la ayuda del sifón otros 50 ml. Repetir la operación hasta que hayan sido tomados 400 ml de agua. Finalmente, transvasar a una crisol tarado el residuo de la suspensión que ha quedado en la probeta.

Evaporar a sequedad a 100 °C durante 15 min y pesar. El residuo no debe ser superior al 2%.

4.12 Poder de adsorción

En una probeta provista de cierre esmerilado, agitar durante 2 min 1 g de caolín con 10 ml de sollución de azul de metileno 0,01 M y dejar deponer. Centrifugar la suspensión y diluir 1/100. La solución no debe estar más fuertemente coloreada que una solución de azul de metileno 0,08 mM.

5. CONSERVACIÓN

El caolín debe ser conservado en lugares ventilados y templados, en recipientes estancos protegidos de elementos volátiles que pueda adsorber.

CARAMELO
N° SIN: 150

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

El caramelo se presenta bajo forma líquida o sólida de marrón oscuro a negro; no es admitido para colorear el vino *stricto sensu* pero puede ser utilizado como colorante para ciertos vinos de licor, bebidas espirituosas de origen vitivinícola y bebidas a base de vino.

2. DEFINICIONES

CARAMELO (O CARAMELO ORDINARIO) (Clase I) (SIN: 150a)

El caramelo (o caramelo ordinario) es preparado por calentamiento controlado de hidratos de carbono constituidos por monómeros glucosa y fructosa y/o por sus polímeros (por ejemplo: almíbar de glucosa, sacarosa y/o almíbar de azúcares invertidos). Para favorecer la caramelización, se pueden utilizar ácidos, bases y sales, con la excepción de los compuestos amoniacales.

CARAMELO DE SULFITO CAUSTICO (Clase II) (SIN: 150b)

El caramelo de sulfito cáustico es preparado por calentamiento controlado de los hidratos de carbono definidos para el caramelo ordinario, con o sin ácidos o bases, en presencia de compuestos sulfitados (ácido sulfuroso, sulfito de potasio, hidrógenosulfito de potasio, sulfito de sodio e hidrógenosulfito de sodio); no se utiliza ningún compuesto amoniacal.

CARAMELO AMONIAL (Clase III) (SIN : 150c)

El caramelo amoniacal es preparado por calentamiento controlado de los hidratos de carbono definidos para el caramelo ordinario, con o sin ácidos o base, en presencia de compuestos de amonio (hidróxido de amonio, carbonato de amonio, hidrógenocarbonato de amonio y fosfato de amonio); no se utiliza ningún compuesto sulfitado.

CARAMELO AL SULFITO DE AMONIO (Clase IV) (SIN : 150d)

El caramelo al sulfito de amonio es preparado por calentamiento controlado de hidratos de carbono definidos para el caramelo ordinario, con o sin ácidos o bases, en presencia de compuestos de sulfito de amonio (ácido sulfuroso, sulfito de potasio, hidrógenosulfito de potasio, sulfito de sodio, hidrógenosulfito de sodio, hidróxido de amonio, carbonato de amonio, hidrógenocarbonato de amonio, fosfato de amonio, sulfato de amonio, sulfito de amonio e hidrógenosulfito de amonio).

3. ETIQUETADO

La concentración del producto debe ser indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezcla, así como las condiciones de conservación.

4. ENSAYOS

4.1 Intensidad de la coloración

La intensidad de la coloración es definida como la absorbancia de una solución de caramelo en agua al 0,1 p. 100 (m/v) medida en una cubeta de 1 cm de recorrido óptico a una longitud de onda de 610 nm.

4.2 Nitrógeno total

A partir de 2 g exactamente pesados de caramelo aplicar el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

4.3 Preparación de la solución para el ensayo

Poner 2 g de caramelo en una cápsula; dejar en la estufa a 105°C durante 4 horas luego incinerar con precaución, sin exceder los 550°C.

Recoger las cenizas con 10 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R). Calentar ligeramente y transvasar en un matraz aforado de 50 ml lavando la cápsula con agua y completar hasta el enrase.

4.4 Metales pesados

A 10 ml de la solución para el ensayo preparada según el punto 4.3, añadir 2 ml de solución tampón H 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo a la tiocetamida (R). Si aparece una coloración marrón, debe ser inferior a la que tiene el testigo preparado como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

4.5 Plomo

En la solución para el ensayo preparada según el punto 4.3, determinar el plomo según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ver el punto 5 para los contenidos máximos.

4.6 Mercurio

Determinar el mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ver el punto 5 para los contenidos máximos.

4.7 Cadmio

En la solución para el ensayo preparada según el punto 4.3, determinar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ver el punto 5 para los contenidos máximos.

4.8 Arsénico

En la solución para el ensayo preparada según el punto 4.3, determinar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ver el punto 5 para los contenidos máximos.

4.9 Materia colorante retenida por DEAE celulosa

Ver método descrito en el JECFA, publicado en el Compendium of food additives specifications, FAO Food and Nutrition Paper 52 Add. 8.

4.10 Materia colorante retenida por fosforilcelulosa

Ver método descrito en el JECFA, publicado en el Compendium of food additives specifications, FAO Food and Nutrition Paper 52 Add. 8.

4.11 4-Metilimidazol

Ver método descrito en el JECFA, publicado en el Compendium of food additives specifications, FAO Food and Nutrition Paper 52 Add. 8

4.12 2-Acetil-4-tetrahidroxibutilimidazol

Ver método descrito en el JECFA, publicado en el Compendium of food additives specifications, FAO Food and Nutrition Paper 52 Add. 8.

4.13 Azufre total

Ver método descrito en el JECFA, publicado en el Compendium of food additives specifications, FAO Food and Nutrition Paper 52 Add. 8.

4.14 Dióxido de azufre

El método utilizado es el que figura en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos de la O.I.V.

5. ESPECIFICACIONES PARTICULARES

5.1 Caramelo Ordinario

Materia colorante retenida por DEAE celulosa	≤de 50 %
Materia colorante retenida por fosforilcelulosa	≤ de 50 %
Intensidad de la coloración	0,01-0,12
Nitrógeno total	≤ de 0,1 %
Azufre total	≤ de 0,3 %
Arsénico	≤ de 1 mg/kg
Plomo	≤ de 2 mg/kg
Mercurio	≤ de 1 mg/kg
Cadmio	≤ de 1 mg/kg
Metales pesados (expresados en Pb)	≤ de 25 mg/kg

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Caramelo

5.2 Caramelo de sulfito cáustico

Materia colorante retenida por DEAE celulosa	≤ de 50 %
Intensidad de la coloración	0,06-0,10
Nitrógeno total	≤ de 0,2 % (1)
Dióxido de azufre total	≤ de 0,2 % (1)
Azufre total	1,3-2,5% (1)
Azufre retenido por DEAE celulosa	≥ de 40 %
Porcentaje de densidad óptica de la coloración	
Retenida por DEAE celulosa	19-34
Relación de los DO 280/560	Superior a 50
Arsénico	≤ de 1 mg/kg
Plomo	≤ de 2 mg/kg
Mercurio	≤ de 1 mg/kg
Cadmio	≤ de 1 mg/kg
Metales pesados (expresados en Pb)	≤ de 25 mg/kg

(¹)Expresado en relación a una intensidad de coloración equivalente, es decir, en relación a un producto que tenga una intensidad de coloración de 0,1 unidad de absorción.

5.3 Caramelo amoniacal

Materia colorante retenida por DEAE celulosa	≤ de 50 %
Materia colorante retenida por fosforilcelulosa	≥ de 50 %
Intensidad de la coloración	0,08-0,36
Nitrógeno amoniacal	≤ de 0,4 % (1)
4-Metilimidazol	≤ de 250 mg/kg (1)
2-Acetil -4-tetrahydroxibutilimidazol	≤ de 10 mg/kg (1)
Azufre total	≤ de 0,3 % (1)
Nitrógeno total	1,3-6,8 % (1)
Porcentaje de densidad óptica de la coloración	
retenida por fosforilcelulosa	3-35
Arsénico	≤ de 1 mg/kg
Plomo	≤ de 2 mg/kg
Mercurio	≤ de 1 mg/kg
Cadmio	≤ de 1 mg/kg
Metales pesados (expresados en plomo)	≤ de 25 mg/kg

(¹)Expresado en relación a una intensidad de coloración equivalente, es decir, en relación a un producto que tenga una intensidad de coloración de 0,1 unidad de absorción.

5.4 Caramelo al sulfito de amonio

Materia colorante retenida por DEAE celulosa	≥ de 50 %
Intensidad de la coloración	0,10-0,60
Nitrógeno amoniacal	≤ de 0,6 % (1)
Dióxido de azufre	≤ de 0,5 % (1)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Caramelo

4-Metilimidazol	≤ de 250 mg/kg (1)
Nitrógeno total	0,5-7,5% (1)
Azufre total	1,4-10,0 % (1)
Relación nitrógeno/azufre del precipitado por el alcohol	0,7-2,7
Relación de los DO del precipitado por el alcohol (2)	8-14
Relación de los DO 280/560	≤ de 50 (2)
Arsénico	≤ de 1 mg/kg
Plomo	≤ de 2 mg/kg
Mercurio	≤ de 1 mg/kg
Cadmio	≤ de 1 mg/kg
Metales pesados (expresados en plomo)	≤ de 25 mg/kg

(¹)Expresado en relación a una intensidad de coloración equivalente, es decir, en relación a un producto con una intensidad de coloración de 0,1 unidad de absorción.

(²) La relación de las densidades ópticas del precipitado por el alcohol es definido como la densidad óptica del precipitado a 280 nm dividido por la densidad óptica a 560 nm (en una cubeta de 1 cm).

6. CONSERVACION

El caramelo debe conservarse en un recipiente cerrado.

7. REFERENCIAS

Directive 95/45/CE Journal officiel des Communautés européennes, L 226, 22 septembre 1995.

Compendium of food additives specifications, Addendum 8, FAO Food and Nutrition Paper 52.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ISBN 92-5-104508-9

CASEINAS
(Caseína láctica o al ácido)
Caseína
(Oeno 12/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La caseína, heteroproteína que contiene fósforo, se encuentra en la leche en estado de sal cálcica.

Ella se obtiene por coagulación de la leche descremada.

Agente de clarificación indicado para el tratamiento de las oxidaciones de los vinos, la caseína puede utilizarse solamente en agua alcalinizada o adicionada al carbonato de potasio o al hidrógenocarbonato de potasio.

La caseína absorbe los polifenoles, especialmente los polifenoles oxidados.

2. ETIQUETADO

La cantidad de caseína utilizada para la preparación debe ser indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezcla, así como las condiciones de conservación.

3. CARACTERISTICAS

La caseína se presenta en polvo de color blanco amarillento, amorfo, insoluble en el agua pura y los diferentes solventes orgánicos. Ella puede presentar un ligero olor láctico. En el agua alcalinizada o en las soluciones de sales a reacción alcalina, se hincha y da una solución coloidal: 100 ml de agua alcalinizada por 1 g de hidróxido de potasio de hidróxido de sodio disolvente, en un baño de agua a 100 °C, 10 g de caseína. Esta solución diluída por 20 veces su volumen de agua es turbia; la misma debe estar exenta de grumos.

Las caseínas llamadas solubles son mezclas de polvo puro y/o de carbonato de potasio (máximo 25 p. 100) o de hidrógenocarbonato de potasio.

Las caseínas utilizadas en enología son de calidad alimentaria.

4. CARACTERES DE IDENTIDAD

4.1 La caseína no precipita por calentamiento de su solución alcalina. Esta solución precipita por acidificación desde que el pH es inferior a 5.

4.2 Las cenizas de la caseína contienen fosfatos caracterizados por el reactivo nitromolíbdcico (R).

5. LIMITES Y METODOS DE ENSAYO

La caseína debe ser sin sabor ni olor anormal (rancio, enmohecido, pútrido, etc...).

5.1 Acidez

5.1.1 Principio

Determinación de la acidez libre en la caseína por dosificación ácido-básica de un extracto acuoso del producto.

5.1.2 Reactivos

- Hidróxido de sodio 0,1 M
- Fenoltaleína, solución a 10 g/l en el etanol

5.1.3 Modo operatorio

Test preliminar:

- Homogeneizar el producto agitando fuertemente;
- Pasar 50 g de producto sobre un tamiz (tamiz en tela metálica de 200 mm de diámetro, de 500 µm de dimensión nominal de apertura y con receptáculo).

(Norma ISO 3310/1) ;

- Si los 50 g de producto pasan en su totalidad, utilizar el producto tal cual
- Si los 50 g de producto no pasan, moler el producto hasta que la totalidad de los 50 g pase.

Durante todas estas operaciones, evitar la modificación del contenido en agua del producto.

Preparación de la solución para ensayos:

- Extraer alrededor de 10 g (10 mg más o menos) de los 50 g pasados al tamiz, o sea m esta masa
- Colocar la masa m en un matraz erlenmeyer de 250 ml
- Agregar en el matraz 200 ml de agua destilada y recientemente hervida y llevar a 60°C
- Agitar el matraz cerrado
- Dejar reposar alrededor de 30 mn en un baño de agua a 60 °C agitando el matraz cada 10 mn

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Caseínas

- Filtrar

El filtrado a 20 °C debe ser límpido.

Realización del ensayo:

- Extraer 100 ml de filtrado
- Colocar esta toma de ensayo en un matraz erlenmeyer de 250 ml
- Agregar en el matraz 0,5 ml de solución de fenolftaleína
- Titular con la solución de hidróxido de sodio 0,1 M
- O sea V el volumen utilizado.

5.1.4 Cálculo

La acidez libre en la caseína expresada en meq/l es igual a:

$$\frac{20 \cdot V \cdot T}{m}$$

- V es el volumen, en ml, de hidróxido de sodio utilizado
 - T es el título molar exacto de la solución de hidróxido de sodio
 - m es la masa, en g, de la toma para experimento.
- La acidez, expresada en ácido láctico, deberá ser inferior a 1,6 g/l.

5.2 pH

Agitar 10 g de caseína en 100 ml de agua durante algunos minutos. Decantar. El pH de la solución debe ser inferior o igual a 5 por la caseína pura.

5.3 Pérdida en la desecación

Determinada hasta un peso constante, en una toma de ensayo de 2 g, la pérdida de peso a 100-105 °C de la caseína debe ser inferior a 12 p. 100.

Todos los límites fijados aquí arriba son referidos al producto seco.

5.4 Cenizas

Incinerar sin sobrepasar los 600 °C el residuo dejado en la determinación de la pérdida en la desecación.

El contenido de cenizas debe ser inferior a 3 p. 100 para la caseína ácida e inferior a 11% para la mezcla caseína ácida y carbonato de potasio o hidrógenocarbonato de potasio.

5.5 Preparación de la solución para ensayos

Luego de pesar las cenizas, disolverlas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y agregar agua hasta obtener un volumen igual a 25 veces el peso de caseína seca. 1 ml de esta solución contiene las materias minerales de 0,04 g de caseína seca.

5.6 Hierro

Extraer 10 ml de la solución preparada para experimentos (5.5), agregar 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), 3 gotas de solución de peróxido de hidrógeno a 3 volúmenes (R) y 2 ml de solución de tianato de potasio a 5 p. 100 (R).

Si una coloración roja aparece, ella debe ser menos intensa que aquella de un testigo preparado con 8 ml de solución de hierro (III) a 0,01 g de hierro por litro (R), 2 ml de agua y los mismos volúmenes de ácido clorhídrico concentrado (R) y de solución de tiocianato de potasio a 5 p. 100 (R). El contenido en hierro debe ser inferior a 200 mg/kg.

Esta determinación puede igualmente ser realizada por espectrofotometría de absorción atómica.

5.7 Plomo

En la solución preparada para experimentos (5.5), efectuar la dosificación del plomo según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

5.8 Cadmio

En la solución preparada para experimentos (5.5), efectuar la dosificación del cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.9 Mercurio

Efectuar la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.10 Arsénico

En la solución preparada para experimentos (5.5), efectuar la dosificación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

5.11 Nitrógeno total

Introducir alrededor de 0,20 g de caseína exactamente pesada en un matraz de mineralización de 15 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 2 g de catalizador de mineralización (R) y continuar la operación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en nitrógeno total debe ser superior a 13 p. 100.

5.12 Proteínas

El contenido en proteínas no puede ser inferior a 82 p. 100 en peso (nitrógeno total 6,38)

5.13 Materias grasas

Determinar el contenido en materias grasas por el método gravimétrico Schmid-Bondzynski-Ratslaff norma ISO 5543.

El contenido en materias grasas debe ser inferior a 2 p. 100.

5.14 Control bacteriológico

Proceder como se indica en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Límite : microorganismos viables totales : menos de 3×10^4 UFC/g.

5.15 Coliformes

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Se debe controlar la ausencia en una muestra de 25 gr.

5.16 Estafilococos

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

La cantidad de estafilococos (β -hemolíticos con coagulasa positiva) debe ser inferior o igual a 1 por g.

5.17 *Escherichia Coli*

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

La ausencia debe ser controlada sobre una muestra de 1 g

5.18 Salmonelas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

La cantidad total de salmonelas debe ser inferior a 1 por 100 g.

5.19 Levaduras

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

5.20 Bacterias lácticas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido límite: 10^2 UFC/g de preparación.

5.21 Lactobacilo sp. *

Contenido límite: 10 UFC/g de preparación.

5.22 Pediococos sp.*

Contenido límite: ausencia en una muestra de 10 g de preparación.

5.23 Bacterias acéticas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

5.24 Moho

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

6. CONSERVACION

La caseína debe conservarse en bolsas herméticas a una temperatura comprendida entre 5 y 20°C y con una humedad relativa inferior a 65 p 100. Puede conservarse así por un período de hasta 24 meses.

7. REFERENCIAS

Norma ISO 5543

*Este método se definirá ulteriormente

CELULOSA
(C₁₂ H₂₀ O₁₀)_n
N° SIN : 460
(Oeno 08/2002)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La celulosa se obtiene mediante tratamiento mecánico y purificación a partir de la alfa-celulosa que proviene directamente de fibras vegetales.

Su peso molecular es de alrededor de $1,5 \cdot 10^5$ Dalton.

La fibra de celulosa es utilizada por sus cualidades adsorbentes, principalmente para la filtración de los vinos.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezcla, así como las condiciones de conservación.

3. CARACTERISTICAS

La celulosa se presenta bajo forma de fibras de color blanco, inodoras y sin sabor. No es soluble en agua.

4. ENSAYOS

4.1 pH

Agitar durante 20 minutos alrededor de 5 g de celulosa en 40 ml de agua excenta de dióxido de carbono. Centrifugar. El pH del líquido que queda en la superficie debe estar comprendido entre 5,0 y 7,5.

4.2 Humedad y materias volátiles

Colocar 5 g de celulosa en una estufa a 105°C durante 3 horas. La pérdida de peso no debe exceder 8 p. 100.

Todos los límites fijados a continuación se refieren al producto seco.

4.3 Almidón

A 10 g de celulosa microcristalina, agregar 90 ml de agua (R) y hacer hervir durante 5 mn. Filtrar en caliente. Enfriar y agregar al filtrado 0,1 ml de solución de iodo 0,05 M.

No aparece coloración azul.

4.4 Cenizas

Incinerar a $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ el residuo obtenido según el punto 4.2, durante 4 horas. El peso de las cenizas no debe ser superior a 0,2 p. 100.

4.5 Preparación de la solución para ensayos

Luego de pesarlas, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua (R). Calentar para activar la disolución y completar a 50 ml con agua (R).

4.6 Hierro

En la solución preparada para ensayos (4.5), dosificar el hierro por espectrofotometría de absorción atómica, ver método descrito en el Capítulo II.

El contenido en hierro debe ser inferior a 100 mg/kg).

4.7 Plomo

En la solución preparada para ensayos (4.5), dosificar el plomo según método descrito en el Capítulo II.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg).

4.8 Mercurio

Efectuar la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg).

4.9 Cadmio

En la solución preparada para ensayos (4.5), dosificar el cadmio según método descrito en el Capítulo II.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg).

4.10 Arsénico

En la solución preparada para ensayos (4.5), dosificar el arsénico según método descrito en el Capítulo II.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 2 mg/kg).

4.11 Calcio

En la solución preparada para ensayos (4.5), dosificar el calcio por espectrofotometría de absorción atómica, ver método descrito en el Capítulo II.

El contenido en calcio debe ser inferior a 500 mg/kg.

CELULOSA MICROCRISTALINA
(C₁₂ H₂₀ O₁₀)_n
N° SIN : 460
(Oeno 9/2002)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La celulosa microcristalina es una celulosa purificada, parcialmente despolimerizada. Se obtiene por tratamiento con ácidos minerales de la alfa-celulosa proveniente directamente de fibras vegetales. Su masa molecular es de aproximadamente 36 000

La celulosa microcristalina tiene un papel de "apoyo" en los medios fermentarios muy clarificados, aumentando la fermentescibilidad de los jugos.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezcla, así como las condiciones de conservación.

3. CARACTERISTICAS

La celulosa se presenta en forma de polvo **microcristalino** de color blanco o sensiblemente blanco, inodoro y sin sabor. Ella es prácticamente insoluble en el agua, la acetona, el etanol, el tolueno, los ácidos diluídos y en las soluciones de hidróxido de sodio de 50 g/l.

4. IDENTIFICACION

4.1 Sobre un vidrio de reloj, colocar alrededor de 10 mg de celulosa microcristalina y dispersar en 2 ml de solución de cloruro de sodio yodado (R), la solución toma un color azul-violeta.

4.2 Grado de polimerización

En un matraz erlenmeyer de 125 ml, colocar 1,300 g de celulosa microcristalina. Agregar 25 ml de agua (R) y 25 ml de solución de hidróxido de cuproetilendiamina 1M. Hacer pasar inmediatamente una corriente de nitrógeno, tapar el matraz y agitar hasta la disolución completa. Transvasar 7 ml de la solución en un viscosímetro capilar apropiado. Cronometrar el tiempo de flujo entre dos graduaciones del viscosímetro y expresar en segundos

el tiempo medido (t_1). Calcular la viscosidad cinemática V_1 de la solución según la fórmula:

$$V_1 = t_1(k_1)$$

En la cual k_1 es la constante del viscosímetro.

Tomar un volumen apropiado de solución de hidróxido de cuproetilendiamina 1M y diluir con el mismo volumen de agua (R). Con ayuda de un viscosímetro capilar apropiado, determinar el tiempo de flujo t_2 de esta solución. Calcular la viscosidad cinemática V_2 del solvente según la fórmula:

$$V_2 = t_2(k_2)$$

En la cual k_2 es la constante del viscosímetro.

Determinar la viscosidad relativa η_{rel} de la muestra de celulosa microcristalina según la fórmula:

$$V_1/V_2$$

Determinar la viscosidad intrínseca $[\eta]_c$ por extrapolación, utilizando la tabla de viscosidad intrínseca en anexo. Calcular el grado de polimerización P, según la fórmula:

$$P = 95[\eta]_c/m[(100-b)/100]$$

en la cual m es la masa, en gramos de la alícuota y b es el valor obtenido en el experimento "pérdida en la desecación" en tanto por ciento.

El grado de polimerización no es superior a 350.

4.3 pH

Agitar durante 20 minutos alrededor de 5 g de celulosa en 40 ml de agua exenta de dióxido de carbono. Centrifugar. El pH del líquido que sobrenada debe estar comprendido 5,0 y 7,5.

4.4 Substancias solubles en éter

En un tubo de vidrio de diámetro interior de 20 mm aproximadamente, preparar una columna de 10,0 g de celulosa microcristalina. Hacer pasar 50 ml de éter exento de peróxidos (R) a través de la columna y evaporar el eluido hasta sequedad. La masa del residuo no debe ser superior a 5,0 mg (0,05 por ciento).

4.5 Substancias solubles en el agua

Agitar 5,0 g de celulosa microcristalina con 80 ml de agua (R) durante 10 mn. Filtrar al vacío y recoger el filtrado en un vaso del que se conoce la tara. Evaporar sobre baño de agua a 100° C a sequedad y desecar a 100-105°C durante 1 hora. La masa del residuo no debe ser superior a 12,5 mg (0,25 por ciento).

4.6 Almidón

A 10 g de celulosa microcristalina, agregar 90 ml de agua (R) y hacer hervir durante 5 mn. Filtrar en caliente. Enfriar y agregar al filtrado 0,1 ml de iodo 0,05 M. No debe aparecer coloración azul.

4.7 Pérdida a la desecación

Poner 1 g de celulosa en una cápsula tarada durante 3 horas en la estufa a 100-105°C. La pérdida en la desecación no debe ser superior a 6,0 por ciento.

Todos los límites fijados a continuación se refieren al producto seco.

4.8 Cenizas

Incinerar a $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ el residuo obtenido en el punto 4.7, durante 4 horas. El peso de las cenizas no debe ser superior a 0,1 p. 100.

4.9 Preparación de la solución para ensayos

Después de pesarlás, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua (R). Calentar para activar la disolución y completar a 50 ml con agua.

4.10 Hierro

Sobre la solución preparada para ensayos (4.9), determinar el hierro por espectrofotometría de absorción atómica, según el método descrito en anexo. El contenido en hierro debe ser inferior o igual a 10 mg/kg.

4.11 Plomo

Sobre la solución preparada para ensayos (4.9), efectuar la dosificación del plomo según el método descrito en anexo. El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

4.12 Mercurio

Efectuar la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.13 Cadmio

En la solución preparada para ensayos (4.9), determinar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.14 Arsénico

Efectuar la dosificación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en arsénico debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.15 Calcio

En la solución preparada para ensayos (4.9), determinar el calcio por espectrofotometría de absorción atómica, según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en calcio debe ser inferior a 500 mg/kg.

5. CONSERVACION

La celulosa debe ser conservada en lugares ventilados en embalajes herméticos al abrigo de sustancias volátiles que podría adsorber.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

CUADRO DE VISCOSIDAD INTRINSECA

Viscosidad intrínseca, $[\eta]_c$, en función del valor de la viscosidad relativa, η_{rel}
 $[\eta]_c$

η_{rel}	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
1,1	0,098	0,106	0,115	0,125	0,134	0,143	0,152	0,161	0,170	0,180
1,2	0,189	0,198	0,207	0,216	0,225	0,233	0,242	0,250	0,259	0,268
1,3	0,276	0,285	0,293	0,302	0,310	0,318	0,326	0,334	0,342	0,350
1,4	0,358	0,367	0,375	0,383	0,391	0,399	0,407	0,414	0,422	0,430
1,5	0,437	0,445	0,453	0,460	0,468	0,476	0,484	0,491	0,499	0,507
1,6	0,515	0,522	0,529	0,536	0,544	0,551	0,558	0,566	0,573	0,580
1,7	0,587	0,595	0,602	0,608	0,615	0,622	0,629	0,636	0,642	0,649
1,8	0,656	0,663	0,670	0,677	0,683	0,690	0,697	0,704	0,710	0,717
1,9	0,723	0,730	0,736	0,743	0,749	0,756	0,762	0,769	0,775	0,782
2,0	0,788	0,795	0,802	0,809	0,815	0,821	0,827	0,833	0,840	0,846
2,1	0,852	0,858	0,864	0,870	0,876	0,882	0,888	0,894	0,900	0,906
2,2	0,912	0,918	0,924	0,929	0,935	0,941	0,948	0,953	0,959	0,965
2,3	0,971	0,976	0,983	0,988	0,994	1,000	1,006	1,011	1,017	1,022
2,4	1,028	1,033	1,039	1,044	1,050	1,056	1,061	1,067	1,072	1,078
2,5	1,083	1,089	1,094	1,100	1,105	1,111	1,116	1,121	1,126	1,131
2,6	1,137	1,142	1,147	1,153	1,158	1,163	1,169	1,174	1,179	1,184
2,7	1,190	1,195	1,200	1,205	1,210	1,215	1,220	1,225	1,230	1,235

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

2,8	1,240	1,245	1,250	1,255	1,260	1,265	1,270	1,275	1,280	1,285
2,9	1,290	1,295	1,300	1,305	1,310	1,314	1,319	1,324	1,329	1,333
3,0	1,338	1,343	1,348	1,352	1,357	1,362	1,367	1,371	1,376	1,381
3,1	1,386	1,390	1,395	1,400	1,405	1,409	1,414	1,418	1,423	1,427
3,2	1,432	1,436	1,441	1,446	1,450	1,455	1,459	1,464	1,468	1,473
3,3	1,477	1,482	1,486	1,491	1,496	1,500	1,504	1,508	1,513	1,517
3,4	1,521	1,525	1,529	1,533	1,537	1,542	1,546	1,550	1,554	1,558
3,5	1,562	1,566	1,570	1,575	1,579	1,583	1,587	1,591	1,595	1,600
3,6	1,604	1,608	1,612	1,617	1,621	1,625	1,629	1,633	1,637	1,642
3,7	1,646	1,650	1,654	1,658	1,662	1,666	1,671	1,675	1,679	1,683
3,8	1,687	1,691	1,695	1,700	1,704	1,708	1,712	1,715	1,719	1,723
3,9	1,727	1,731	1,735	1,739	1,742	1,746	1,750	1,754	1,758	1,762
4,0	1,765	1,769	1,773	1,777	1,781	1,785	1,789	1,792	1,796	1,800
4,1	1,804	1,808	1,811	1,815	1,819	1,822	1,826	1,830	1,833	1,837
4,2	1,841	1,845	1,848	1,852	1,856	1,859	1,863	1,867	1,870	1,874
4,3	1,878	1,882	1,885	1,889	1,893	1,896	1,900	1,904	1,907	1,911
4,4	1,914	1,918	1,921	1,925	1,929	1,932	1,936	1,939	1,943	1,946
4,5	1,950	1,954	1,957	1,961	1,964	1,968	1,971	1,975	1,979	1,982
4,6	1,986	1,989	1,993	1,996	2,000	2,003	2,007	2,010	2,013	2,017
4,7	2,020	2,023	2,02	2,030	2,033	2,037	2,040	2,043	2,047	2,05

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

			7							0
4,8	2,053	2,057	2,060	2,063	2,067	2,070	2,073	2,077	2,080	2,083
4,9	2,087	2,090	2,093	2,097	2,100	2,103	2,107	2,110	2,113	2,116

5,0	2,119	2,122	2,125	2,129	2,132	2,135	2,139	2,142	2,145	2,148
5,1	2,151	2,154	2,158	2,160	2,164	2,167	2,170	2,173	2,176	2,180
5,2	2,183	2,186	2,190	2,192	2,195	2,197	2,200	2,203	2,206	2,209
5,3	2,212	2,215	2,218	2,221	2,224	2,227	2,230	2,233	2,236	2,240
5,4	2,243	2,246	2,249	2,252	2,255	2,258	2,261	2,264	2,267	2,270
5,5	2,273	2,276	2,279	2,282	2,285	2,288	2,291	2,294	2,297	2,300
5,6	2,303	2,306	2,309	2,312	2,315	2,318	2,320	2,324	2,326	2,329
5,7	2,332	2,335	2,338	2,341	2,344	2,347	2,350	2,353	2,355	2,358
5,8	2,361	2,364	2,367	2,370	2,373	2,376	2,379	2,382	2,384	2,387
5,9	2,390	2,393	2,396	2,400	2,403	2,405	2,408	2,411	2,414	2,417

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

6,0	2,419	2,422	2,425	2,428	2,431	2,433	2,436	2, 43 9	2, 44 2	2,444
6,1	2,447	2,450	2,453	2,456	2,458	2,461	2,464	2, 46 7	2, 47 0	2,472
6,2	2,475	2,478	2,481	2,483	2,486	2,489	2,492	2, 49 4	2, 49 7	2,500
6,3	2,503	2,505	2,508	2,511	2,513	2,516	2,518	2, 52 1	2, 52 4	2,526
6,4	2,529	2,532	2,534	2,537	2,540	2,542	2,545	2, 54 7	2, 55 0	2,553
6,5	2,555	2,558	2,561	2,563	2,566	2,568	2,571	2, 57 4	2, 57 6	2,579
6,6	2,581	2,584	2,587	2,590	2,592	2,595	2,597	2, 60 0	2, 60 3	2,605
6,7	2,608	2,610	2,613	2,615	2,618	2,620	2,623	2, 62 5	2, 62 7	2,630
6,8	2,633	2,635	2,637	2,640	2,643	2,645	2,648	2, 65 0	2, 65 3	2,655
6,9	2,658	2,660	2,663	2,665	2,668	2,670	2,673	2, 67 5	2, 67 8	2,680
7,0	2,683	2,685	2,687	2,690	2,693	2,695	2,698	2, 70 0	2, 70 2	2,705
7,1	2,707	2,710	2,712	2,714	2,717	2,719	2,721	2, 72 4	2, 72 6	2,729
7,2	2,731	2,733	2,736	2,738	2,740	2,743	2,745	2, 74 8	2, 75 0	2,752
7,3	2,755	2,757	2,760	2,762	2,764	2,767	2,769	2, 77	2, 77	2,776

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

								1	4	
7,4	2,779	2,781	2,783	2,786	2,788	2,790	2,793	2, 79 5	2, 79 8	2,800
7,5	2,802	2,805	2,807	2,809	2,812	2,814	2,816	2, 81 9	2, 82 1	2,823
7,6	2,826	2,828	2,830	2,833	2,835	2,837	2,840	2, 84 2	2, 84 4	2,847
7,7	2,849	2,851	2,854	2,856	2,858	2,860	2,863	2, 86 5	2, 86 8	2,870
7,8	2,873	2,875	2,877	2,879	2,881	2,884	2,887	2, 88 9	2, 89 1	2,893
7,9	2,895	2,898	2,900	2,902	2,905	2,907	2,909	2, 91 1	2, 91 3	2,915
8,0	2,918	2,920	2,922	2,924	2,926	2,928	2,931	2, 93 3	2, 93 5	2,937
8,1	2,939	2,942	2,944	2,946	2,948	2,950	2,952	2, 95 5	2, 95 7	2,959
8,2	2,961	2,963	2,966	2,968	2,970	2,972	2,974	2, 97 6	2, 97 9	2,981
8,3	2,983	2,985	2,987	2,990	2,992	2,994	2,996	2, 99 8	3, 00 0	3,002
8,4	3,004	3,006	3,008	3,010	3,012	3,015	3,017	3, 01 9	3, 02 1	3,023
8,5	3,025	3,027	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3, 04 0	3, 04 2	3,044
8,6	3,046	3,048	3,050	3,052	3,054	3,056	3,058	3, 06 0	3, 06 2	3,064
8,7	3,067	3,069	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,	3,	3,085

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

								08 1	08 3	
8,8	3,087	3,089	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3, 10 2	3, 10 4	3,106
8,9	3,108	3,110	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3, 12 2	3, 12 4	3,126

9.0	3,128	3,130	3,132	3,134	3,136	3,138	3,14 0	3,142	3,144	3,14 6
9.1	3,148	3,150	3,152	3,154	3,156	3,158	3,16 0	3,162	3,164	3,16 6
9,2	3,168	3,170	3,172	3,174	3,176	3,178	3,18 0	3,182	3,184	3,18 6
9,3	3,188	3,190	3,192	3,194	3,196	3,198	3,20 0	3,202	3,204	3,20 6
9,4	3,208	3,210	3,212	3,214	3,215	3,217	3,21 9	3,221	3,223	3,22 5
9,5	3,227	3,229	3,231	3,233	3,235	3,237	3,23 9	3,241	3,242	3,24 4
9,6	3,246	3,248	3,250	3,252	3,254	3,256	3,25 8	3,260	3,262	3,26 4
9,7	3,266	3,268	3,269	3,271	3,273	3,275	3,27 7	3,279	3,281	3,28 3
9,8	3,285	3,287	3,289	3,291	3,293	3,295	3,29 7	3,298	3,300	3,30 2
9,9	3,304	3,305	3,307	3,309	3,311	3,313	3,31 6	3,318	3,320	3,32 1
10	3,32	3,34	3,36	3,37	3,39	3,41	3,43	3,45	3,46	3,48
11	3,50	3,52	3,53	3,55	3,56	3,58	3,60	3,61	3,63	3,64
12	3,66	3,68	3,69	3,71	3,72	3,74	3,76	3,77	3,79	3,80
13	3,80	3,83	3,85	3,86	3,88	3,89	3,90	3,92	3,93	3,95
14	3,96	3,97	3,99	4,00	4,02	4,03	4,04	4,06	4,07	4,09
15	4,10	4,11	4,13	4,14	4,15	4,17	4,18	4,19	4,20	4,22
16	4,23	4,24	4,25	4,27	4,28	4,29	4,30	4,31	4,33	4,34

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Celulosa microcristalina

17	4,35	4,36	4,37	4,38	4,39	4,41	4,42	4,43	4,44	4,45
18	4,46	4,47	4,48	4,49	4,50	4,52	4,53	4,54	4,55	4,56
19	4,57	4,58	4,59	4,60	4,61	4,62	4,63	4,64	4,65	4,66

CÍTRICO (ÁCIDO), MONOHIDRATO
Acido 3-Carboxi-3-hidroxipentanodioico, monohidrato
Acidum citricum
C₆H₈O₇, H₂O = 210,1
N° SIN: 330
(Oeno 23/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El ácido cítrico puede ser utilizado para la acidificación química de los vinos o por su acción estabilizante particularmente para limitar los riesgos de quiebras férricas o para el prelavado de placas filtrantes. El contenido máximo en los vinos puede estar sometido a límites reglamentarios

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

El ácido cítrico se presenta bajo la forma de cristales incoloros, translúcidos, bastante friables, ligeramente efluorescentes, o bajo forma de polvo cristalino.

$$D_{\frac{20^{\circ}\text{C}}{4^{\circ}\text{C}}} = 1,542$$

El ácido cítrico funde a 100°C, luego pierde su agua de cristalización a 135°C

El ácido cítrico anhidro funde a 153°C y se descompone por encima de 173°C.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	muy soluble
Alcohol 95% vol.	muy soluble
Glicerol	muy soluble

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cítrico (ácido), monohidrato

Éter etílico 31,5 g/l

La solución acuosa de ácido cítrico es inactiva a la luz polarizada.

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 5.1** Verificar la solubilidad total en agua. La solución del 1 p. 100 (m/v) presenta reacción ácida frente al naranja de metilo. (R).
- 5.2** En un tubo de ensayo colocar 2 ml de una solución acuosa de 1 g/l de ácido cítrico, 0,5 ml de solución de sulfato de mercurio(II) (R), llevar a ebullición y añadir unas gotas de solución de permanganato de potasio del 2 p. 100 (R). Se forma inmediatamente un precipitado blanco.
- 5.3** A 0,1 ml de la solución acuosa de ácido cítrico al 10 p. 100 (m/v), añadir 1 gota de agua de bromo (R), 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (R), 1 gota de solución saturada de permanganato de potasio (R). Llevar a ebullición.

Añadir 2 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), calentar de nuevo hasta completa disolución. Dejar enfriar, después introducir 0,1 ml de solución de beta-naftol (R). Se desarrolla una coloración verde. Con el reactivo sulforesorcínico (R), se obtiene una coloración rosa en las mismas condiciones.

- 5.4** En un tubo de ensayo, colocar 5 ml de cloroformo o de diclorometano, añadir 100 a 200 mg de ácido cítrico. Agitar. Los cristales o el polvo cristalino debe juntarse en la superficie del líquido. En estas condiciones, el ácido tartárico se congrega en el fondo del tubo.

6. ENSAYOS

6.1 Materias extrañas

El ácido deberá ser soluble sin residuos en su mismo peso de agua y en dos veces su peso de alcohol al 95% vol.

6.2 Cenizas sulfúricas

La cantidad de cenizas sulfúricas obtenidas de acuerdo con el método descrito en el anexo, después de calcinación a 600°C ± 25°C, deberán ser inferiores a 0,5 g/kg.

6.3 Búsqueda del ácido tartárico

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cítrico (ácido), monohidrato

A 2 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), añadir 2 gotas de reactivo sulforesorcínico (R), 2 gotas de la solución al 10 p. 100 (m/v) de ácido cítrico y calentar a 150°C. La solución no se debe colorear de violeta.

6.4 Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución al 10 p. 100 (m/v).

6.5 Cloruros

A 0,5 ml de solución preparada para los ensayos (6.4), añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 0,5 p. 100 (R). Después de 15 minutos de reposo en la oscuridad, no se deberá observar ninguna turbidez o ésta debe ser inferior a la de una solución testigo preparada como está indicada en el anexo. (Contenido en cloruros expresado en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg.)

6.6 Sulfatos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (6.4), añadir 18 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 2 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). Después de 15 minutos no se debe observar turbidez o ésta debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado reemplazando la solución para ensayo por 1 ml de ácido sulfúrico de 0,1 g/l. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg)

6.7 Ácido oxálico y bario

Neutralizar por adición de hidróxido amónico concentrado (R) 5 ml de la solución preparada para los ensayos (6.4), añadir 2 gotas de ácido acético (R) y 5 ml de solución saturada de sulfato de calcio (R). No se debe producir ninguna turbidez. (Contenido en oxalatos expresado como ácido oxálico inferior a 0,1 g/kg)

6.8 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para ensayos (6.4) añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una solución roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 1 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y las mismas cantidades de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 10 mg/kg)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cítrico (ácido), monohidrato

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

6.9 Cadmio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4) buscar el cadmio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de cadmio inferior a 1 mg/kg).

6.10 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 1 mg/kg).

6.11 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4) buscar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1 mg/kg).

6.12 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.4) buscar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 1 mg/kg).

7. CONSERVACIÓN

El ácido cítrico debe ser conservado en un lugar seco en recipientes herméticos.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cobre (sulfato de), pentahidrato

COBRE (SULFATO DE), PENTAHIDRATO
Sulfato de cobre (II), pentahidrato
 $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O} = 249,68$
(Oeno 25/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El sulfato de cobre se utiliza en el tratamiento de los vinos que presentan "sabores" llamados reductores debidos a la presencia de sulfuro de hidrógeno o de tioles volátiles.

Los sulfuros de cobre formados precipitan y deben ser eliminados del vino.

Su utilización está condicionada a los límites de aportación de sulfato cobre pentahidrato y, por otra parte, existen límites legislados para el contenido de cobre en el vino.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en el caso de mezclas así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Cristales azules, poco brillantes en aire seco.

4. COMPOSICIÓN

99% mínimo de $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$

5. CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Punto de fusión: 110°C con pérdida de agua.

La solución acuosa forma con el hidróxido de amonio (R) un complejo azul oscuro de tetraammincobre.

La solución acidificada con ácido clorhídrico reacciona con una solución de cloruro de bario (R) formando un precipitado blanco de sulfato de bario.

6. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C 286 g/l

Metanol 15,6 g/l

Insoluble en etanol (alcohol a 95% vol).

7. ENSAYOS

7.1 Preparación de la solución para los ensayos

Disolver 10 g del producto en 50 ml de agua.

7.2 Aspecto de la solución para los ensayos

La solución para los ensayos debe ser transparente.

7.3 Hierro

Poner en un embudo de decantación 2 ml de solución preparada para los ensayos (7.1), añadir 8 ml de agua, 10 ml de ácido clorhídrico 6 M (R) y 10 ml de 4-metilpentan-2-ona, agitar fuerte durante 3 min. Dejar reposar hasta la separación de las dos fases, decantar la fase orgánica en un segundo embudo de decantación, añadir 10 ml de agua, agitar otra vez fuerte durante 3 min. Separar la fase acuosa para el ensayo siguiente y proceder de la forma siguiente:

Añadir a la fase acuosa 2 ml de la solución de ácido cítrico (20 g/100 ml), 0,1 ml de ácido tioglicólico conc. (HS-CH₂-COOH) y un poco de solución de hidróxido de amonio 6 M (10 - 10,4 g NH₃/100 ml) hasta reacción alcalina, diluir con agua hasta 20 ml. Al cabo de 5 min, la muestra no debe presentar más coloración que la del ensayo efectuado con la solución de comparación que se describe a continuación (7.3.1).

7.3.1 Preparación de la solución comparación

7.3.1.1 Solución 1 de sulfato (doble) de amonio y de hierro (III)

Disolver 0,702 g de sulfato (doble) de amonio y de hierro (III) en 1,2 ml de ácido clorhídrico 6 M y completar hasta 100 ml con agua.

7.3.1.2 Solución 2 de sulfato (doble) de amonio y de hierro (III)

Tomar 7 ml de la solución 1 de sulfato (doble) de amonio y de hierro (III) (7.3.1.1) y completar a 100 ml con agua.

1 ml de solución 2 corresponde a 10 µg de Fe(III).

7.3.1.3 Prueba con la solución de comparación

La solución de comparación debe ser preparada en el momento de su empleo de la manera siguiente:

Tomar 1 ml de la solución 2 de sulfato (doble) de amonio y de hierro (III) (2) y tratarlo de la misma manera que en el ensayo del producto.

Observación También es posible dosificar el hierro por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el "Recueil".

El contenido de hierro debe ser inferior a 100 mg/kg.

7.4 Níquel

Añadir a la fase acuosa del punto 7.3, 2 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 1 ml de ácido nítrico conc. (R). Después de evaporar la solución, disolver el residuo en 1 ml de ácido nítrico 6 M (R) y 19 ml de agua. Diluir 1 ml de esta solución hasta un volumen total de 10 ml. Tomar 2,50 ml de esta solución diluida, y añadir 6 ml de agua, 5 ml de solución de bromo (R), 7 ml de solución de hidróxido de amonio 6 M y 3 ml de solución de dimetilgloxima de 100 g/100 ml de etanol al 96% vol. La solución, al cabo de un minuto, no debe presentar diferencias en comparación con el blanco.

El níquel también puede ser dosificado por espectrofotometría de absorción atómica.

El contenido límite de níquel aún se debe fijar.

7.5 Cloruros

Añadir a 25 ml de solución preparada para los ensayos (7.1) 10 ml de agua y 8 ml de hidróxido de sodio 6 M, y calentar la mezcla en

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cobre (sulfato de), pentahidrato

un baño de agua a 100°C hasta que se deposite el precipitado completamente. Dejar enfriar y diluir con agua hasta 50 ml. Filtrar y tomar 4 ml del filtrado, añadir 6 ml de agua y realizar el ensayo de la manera siguiente: añadir 1 ml de ácido nítrico 6 M (R) y 1 ml de solución de nitrato de plata 0,1 M (R). Al cabo de 5 min, agitar la muestra: ésta no deberá presentar más turbidez que la del ensayo testigo efectuado con la solución de comparación (7.5.1).

El contenido de cloruros debe ser inferior a 100 mg/kg.

7.5.1 Preparación de la solución de comparación

Diluir 4 ml de solución de cloruro de sodio 0,1 M (23,4 ml/100 ml) con agua hasta 100 ml. Corresponde a 142 µg Cl⁻ y se debe preparar en el momento de su empleo.

7.5.2 Prueba testigo con la solución de comparación.

Tomar 1 ml de la solución de cloruro de sodio (7.5.1) y proceder de la misma manera que en el análisis del producto.

7.6 Plomo

El ensayo del contenido de plomo se debe realizar sobre la solución preparada para los ensayos (7.1), según el método descrito en el "Recueil".

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

7.7 Mercurio

La dosificación del mercurio se debe realizar sobre la solución preparada para los ensayos (7.1), según el método descrito en el anexo.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

7.8 Arsénico

La dosificación del arsénico se debe realizar sobre la solución preparada para los ensayos (7.1), según el método descrito en el anexo.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

7.9 Riqueza

Pesar exactamente 0,5 g del producto, disolverlo en 20 ml de agua, y añadir 5 ml de ácido acético 6 M y 2 g de yoduro de

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cobre (sulfato de), pentahidrato

potasio. Valorar con una solución de tiosulfato de sodio 0,1 M en presencia de almidón (R).

1 ml de solución de tiosulfato de sodio 0,1 M corresponde a 6,354 mg Cu (II) o, si se expresa el resultado en producto, a 24,97 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

8. CONSERVACIÓN

El sulfato de cobre debe ser conservado protegido de la humedad y en recipientes herméticamente cerrados.

COLA DE PESCADO
Ichtyocolle
(Oeno 24/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

La cola de pescado se prepara con la vejiga natatoria, las agallas y la carrillada de ciertos peces, especialmente de los esturiones.

Se presenta en hojas transparentes, incoloras o ligeramente amarillentas, o más frecuentemente en láminas, con apariencia de pergamino seco, o bajo forma vermicular o en polvo.

La cola de pescado se infla en el agua y se vuelve opaca. Se disuelve en agua caliente, acidulada con ácido tartárico, dejando como máximo 3 p. 100 de residuo, constituido por membranas. Con 30 a 50 partes de agua caliente da, después de enfriamiento, un gel incoloro y translúcido.

La cola de pescado se presenta también a menudo después de hidrólisis parcial, bajo forma de soluciones coloidales, dispuestas para el uso, estabilizadas por SO₂. En este caso debe conservarse en frío, en recipiente cerrado.

La cola de pescado se utiliza para la clarificación de los vinos blancos y rosados.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe estar indicada en la etiqueta, incluso en caso de mezclas, así como las condiciones de seguridad y conservación. La fecha límite de utilización y el contenido en SO₂ se mencionarán en la etiqueta.

3. ENSAYOS

3.1 La solución en agua caliente debe ser sin olor ni sabor desagradable, de reacción neutra o ligeramente alcalina. Precipita con el tanino.

Su pH está comprendido entre 3,5 y 4 si se ha empleado ácido tartárico para facilitar su disolución.

3.2 La cola de pescado tratada por una solución de hidróxido de potasio (R) debe permanecer transparente y, después de algunas horas, dar un líquido incoloro, que con el tiempo deja aparecer un ligero precipitado coposo. En las mismas condiciones, la gelatina se vuelve opaca, se solubiliza difícilmente y da un precipitado blanco abundante.

3.3 Búsqueda de las sustancias albuminoides. La solución acuosa no debe precipitar por adición de una solución de sulfato de hierro (III) (R).

3.4 Pérdida por desecación

3.4.1 *Cola de pescado presentada en estado sólido.*

En una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro, con tapa, colocar 2 g de cola de pescado. Desecar en estufa a 100-105°C durante 6 horas. Dejar enfriar con la cápsula abierta en un desecador. Pesar. Sea **p** la cantidad de residuo seco; la pérdida de peso no debe sobrepasar 18 p. 100.

3.4.2 *Cola de pescado presentada en forma líquida.*

En una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro, colocar alrededor de 10 g de solución coloidal de cola de pescado, pesar exactamente esta cantidad en cápsula abierta, desecar en un baño de agua a 100°C durante 4 horas y terminar la desecación en estufa a 100-105°C, durante 3 horas.. Dejar enfriar en cápsula abierta en el desecador. Pesar la cantidad de residuo seco, sea **p** esta cantidad referida a 100 g de solución coloidal, el residuo seco debe alcanzar el 1 p. 100 como mínimo.

Todos los límites fijados a continuación están referidos a producto seco.

3.5 Cenizas

Incinerar el residuo seco del ensayo 3.4 calentándolo progresivamente a 600°C en una mufla, después de espolvorear la cola de pescado con 0,2 a 0,3 g de parafina exenta de cenizas para evitar que la masa se rebose.

El porcentaje de cenizas no debe ser superior al 2 p. 100.

3.6 Preparación de la solución para los ensayos

Después de pesadas, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y añadir agua destilada hasta la obtención de un volumen igual a 25 veces el peso de la cola de pescado seca. 1 ml de esta solución contiene los minerales de 0,04 g de cola de pescado seca.

3.7 Nitrógeno total

Ver el método descrito en el anexo.

El contenido en nitrógeno total debe ser superior a 14 p. 100.

3.8 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para ensayos (3.6), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) una gota de permanganato de potasio al 1 p. 100 (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 4,2 ml de solución de hierro(III) de 0,010 g de hierro por litro, 5,8 ml de agua y las mismas cantidades de ácido clorhídrico concentrado (R) y de tiocianato de potasio a 5 p. 100.

El contenido de hierro debe ser inferior a 100 mg/kg.

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

3.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (3.6) buscar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

3.10 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (3.6), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

3.11 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (3.6) buscar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

4. CONSERVACIÓN

La cola de pescado debe ser conservada en recipientes herméticos; se indicará la fecha límite de utilización.

Las soluciones coloidales deben ser almacenadas a temperaturas inferiores a 10°C con el fin de evitar una hidrólisis rápida del producto durante su conservación.

DIATOMITA
Kieselguhr
Tierra de diatomeas
(Oeno 10/2002)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Roca sedimentaria constituída esencialmente por cáscaras silíceas de diatomeas (algas microscópicas unicelulares) fósiles.

Para ser utilizada en enología esta roca es partida, secada, molida, depurada por lavado y calcinada a alta temperatura (950 à 1100°C). En el transcurso de la calcinación pueden agregarse fundentes alcalinos.

Ella es utilizada al estado pulverulento entre 5 y 40 micrones y se presenta bajo el aspecto de un polvo rosado para los productos calcinados, o blanco en el caso de los productos calcinados y activados.

La diatomita es un coadyuvante de filtración de los mostos y de los vinos.

La utilización de la diatomita hace que sea necesario el uso de una máscara de protección para los trabajadores que estén expuestos a ella.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la granulometría, la permeabilidad, las especificaciones de los documentos de acompañamiento, así como las condiciones de seguridad y de conservación.

3. ENSAYOS

3.1 Olor y sabor

La diatomita no debe transmitir ni olor ni sabor extraño al vino. Poner 2,5 g de diatomita en un litro de vino. Agitar. Dejar reposar 24 horas. Degustar en comparación al mismo vino al cual no se le haya agregado diatomita.

3.2 Pérdida por desecación

Colocar en una cápsula alrededor de 5 g de diatomita. Poner en la estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Después de dos horas la pérdida de peso no debe ser superior a 1 p. 100.

3.3 Pérdida en la calcinación

Llevar el residuo seco obtenido en el punto 3.2 en un horno a 550°C. La pérdida de peso no debe sobrepasar 3 p. 100.

3.4 Medida del pH.

En un recipiente de 250 ml, poner alrededor de 10 g de diatomita luego verter lentamente, agitando manualmente, 100 ml de agua para mojar el producto y obtener una suspensión homogénea. Agitar de vez en cuando manualmente o con ayuda de un agitador magnético. Después de 10 minutos, dejar reposar la suspensión y medir el pH. Las diatomitas calcinadas (rosadas) tienen un pH comprendido entre 5 y 7,5 y las diatomitas calcinadas activadas (blancas) tienen un pH comprendido entre 6 y 10,5.

3.5 Productos solubles en los ácidos diluídos

Tratar en ebullición 10 g de diatomita secada con 20 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 100 ml de agua. Recoger la diatomita sobre un filtro sin cenizas y lavar el residuo con 100 ml de agua destilada. Después de la desecación a 100-105°C e incineración, separado del filtro el residuo insoluble deberá pesar al menos 9,8 g o sea 98 p. 100 del producto seco.

3.6 Preparación de la solución para ensayos

En un frasco de 500 ml, que pueda ser herméticamente tapado, poner 200 ml de ácido cítrico de 5 g por litro llevado a pH 3 (R) y 10 g de diatomita. Colocar sobre un agitador magnético y agitar durante una hora a una temperatura de $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Dejar reposar y luego filtrar eliminando los 50 primeros ml de filtrado. Recoger al menos 100 ml de líquido claro.

3.7 Hierro

En la solución para ensayos según el punto 3.6, proceder a la dosificación del hierro según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en hierro debe ser inferior a 300 mg/kg.

3.8 Plomo

En la solución para ensayos según el punto 3.6, proceder a la dosificación del plomo según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

3.9 Mercurio

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Diatomita

En la solución para ensayos según el punto 3.6, proceder a la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

3.10 Arsénico

Sobre 4 ml de la solución para ensayos según el punto 3.6, proceder a la dosificación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

4. CONSERVACION

La diatomita debe ser conservada en lugares secos y bien ventilados, en bolsas herméticas al vacío y en locales templados.

Declaración de Dinamarca:

“Toda vez que existan diferencias en las especificaciones de pureza, en las definiciones y en los métodos de análisis entre la OIV y otras organizaciones intergubernamentales competentes, como el Codex Alimentarius y la Unión Europea, Dinamarca cree que todos los esfuerzos posibles deben ser realizados para identificar la razón por la cual esas diferencias existen y para intentar atenuar en la medida de lo posible, para evitar la existencia de reglamentaciones internacionales diferentes sobre un mismo tema

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Dicarbonato de dimetilo (DMDC)

DICARBONATO DE DIMETILO (DMDC)

Pirocarbonato de metilo

N° SIN = 242

C.A.S 004-525-33-1

EINECS 224-859-8

Fórmula química : $C_4H_6O_5$
 $H_3C-O-(C=O)-O-(C=O)-O-CH_3$,

Peso molecular 134,09

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Antiséptico principalmente activo contra las levaduras. Producto de síntesis.

2. ETIQUETADO

Deben ser mencionados en la etiqueta: el nombre « Dicarbonato de dimetilo », el número de lote, la fecha límite de utilización, la temperatura de almacenamiento (20 – 30°C) y las consignas de seguridad.

3. CARACTERISTICAS

Líquido incoloro, se descompone en solución acuosa. Corrosivo para la piel y los ojos, tóxico en caso de inhalación y de ingestión.

Después de la dilución, en agua se forma el CO_2 , que se puede caracterizar.

Punto de fusión: 17 °C.

Punto de ebullición: 172 °C con descomposición.

Densidad a 20 °C: alrededor de 1,25.

Espectro infrarrojo: absorción máxima a 1156 nm y 1832 nm.

4 CARACTERIZACION

4.1 Principio del método

La muestra se mezcla con un exceso de dibutilamina, con la cual reacciona directamente. El exceso de amina se valora por retroceso con un ácido.

4.2 Aparatos

- 4.2.1 Vaso de precipitados de 150 ml
- 4.2.2 Probeta graduada de 100 ml
- 4.2.3 Pipeta de 20 ml
- 4.2.4 Electrodo de vidrio / electrodo de referencia
- 4.2.5 pH metro.
- 4.2.6 Bureta de émbolo de 20 ml
- 4.2.7 Agitador magnético
- 4.2.8 Jeringa desechable de 2 ml

4.3 Reactivos

- 4.3.1 Acetona pura
- 4.3.2 Solución molar de dibutilamina [$C_8H_{19}N$] = 1 mol/l
Pesar 128 g de dibutilamina, añadir clorobenceno hasta el enrase del matraz de 1 litro.
- 4.3.4 Solución molar de ácido clorhídrico [HCl] = 1 mol/l
Determinar la concentración por valoración con carbonato de sodio. Título:
t
- 4.3.5 Carbonato de sodio anhidro, desecado en la estufa a 110°C.

4.4 Modo de operar

Verter alrededor de 70 ml de acetona (4.3.1) en la vaso de precipitados de 150 ml
Introducir con la jeringa desechable (4.2.8) un peso de muestra (precisión de $\pm 0,1$ mg) de 1,0
a 1,3g (W) en el vaso de precipitados 4.2.1

Añadir exactamente 20 ml de la solución de dibutilamina (4.3.2) con la pipeta (4.2.3) y agitar enérgicamente.

4.4.1 Titular por potenciometría el exceso de amina con el ácido clorhídrico (4.3.4).

Consumo de solución de HCl = V1 ml.

4.4.2 Realizar un ensayo testigo según 4.4, pero sin añadir una muestra.
Consumo de solución de HCl = V2 ml.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Dicarbonato de dimetilo (DMDC)

4.5 Resultado

$$\frac{(V2-V1) \cdot t \cdot 134,1 \cdot 100}{1000 \cdot W} = \frac{(V2-V1) \cdot t \cdot 13,41}{W} = \% \text{ dicarbonato de dimetilo}$$

El contenido en DMDC debe ser superior o igual a 99,8 %.

5. CONTENIDO EN METALES PESADOS (EXPRESADO EN PLOMO), EN MERCURIO y EN CLORO

5.1 Solución tampón, pH = 3,5: disolver 6,25 g de acetato de amonio en 6 ml de agua, añadir 6,4 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua hasta 25 ml.

5.2 Solución para ensayos: verter en un matraz Erlenmeyer 5 ml de solución tampón, 25,0 g de muestra y alrededor de 15 ml de agua. Dejar la muestra hidrolizarse durante tres días agitando de vez en cuando. Transvasar la solución a un matraz aforado de 50 ml y completar con agua hasta el enrase.

5.3 Metales pesados

Determinar el contenido en metales pesados según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido en metales pesados debe ser inferior a 10 mg/kg.

5.4 Mercurio

A partir de la solución para el ensayo (5.2), determinar el contenido de mercurio según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.5 Cloro

A partir de la solución para el ensayo 5.2 (diluida 2 veces en relación al contenido inicial), determinar el cloro según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en cloro debe ser inferior a 3 mg/kg.

6. DETERMINACIÓN DEL ARSÉNICO, DEL PLOMO, DEL MERCURIO Y DEL CADMIO POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

6.1 Preparación de la solución para el ensayo

Para la determinación del arsénico, del plomo y del cadmio:

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Dicarbonato de dimetilo (DMDC)

Pesar alrededor de 100 g de muestra con una precisión de $\pm 0,1$ g en un vaso de precipitados
Añadir 200 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico puro (R) y concentrar en una placa calefactora hasta la aparición de los primeros vapores de ácido sulfúrico.

Diluir nuevamente la solución con agua y añadir 1 ml de ácido clorhídrico puro (R). Verter realizando diversos lavados en el matraz aforado de 50 ml y completar hasta el enrase.

6.2 Arsénico

A partir de la solución para el ensayo (6.1) determinar el arsénico según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

6.3 Plomo

A partir de la solución para el ensayo (6.1) determinar el plomo según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en plomo debe ser inferior a 5mg/kg.

6.4 Cadmio

A partir de la solución para el ensayo (6.1) determinar el cadmio según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido en cadmio debe ser inferior a 0,5 mg/kg.

7. DETERMINACIÓN DEL CARBONATO DE DIMETILO

El contenido en carbonato de dimetilo debe ser inferior a 0.2 %.

7.1 Principio del método

La concentración de carbonato de dimetilo se determina por cromatografía en fase gaseosa. La evaluación cuantitativa se realiza utilizando metil-isobutilcetona como patrón interno.

7.2 Aparatos

7.2.1 Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama y columna capilar (de tipo apolar« SE 30 » u otro ; puede también utilizarse una columna polar de tipo Carbowax 20 M), 50 m x 0,3 mm.

7.2.2 Sistema de adquisición de datos.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Dicarbonato de dimetilo (DMDC)

7.2.3 Jeringa con aguja de cuarzo de una capacidad de 10 µl y utilizable para la inyección en la columna (inyección « on column ») (cf. observación 7.7).

7.2.4 Vial de 10 ml con tapón de teflón que pueda ser sellado con una cápsula de aluminio cuya parte superior pueda desecharse.

7.3 Patrón interno

Metil-isobutilcetona ultra pura

7.4 Modo operatorio.

7.4.1 Pesar alrededor de 1 g de muestra (con una precisión de ± 1 mg) W1 mg en un vial 7.2.4

7.4.2 Añadir una cantidad de patrón interno (W2 mg) de metil-isobutilcetona (7.3) correspondiente a 10 mg/kg después de añadido (es decir, 10 µl por ejemplo)

7.4.3 Sellar el vial, mezclar enérgicamente e inyectar 0,2 µl.

7.4.4 Determinar el área del pico correspondiente al patrón interno (F 2) y el área correspondiente al carbonato de dimetilo (F 1)

7.5 Resultado

$$\frac{W2 \cdot F1 \cdot K \cdot 100}{F2 \cdot W1} = \% \text{ masa de carbonato de dimetilo}$$

K = Factor de respuesta para el carbonato de dimetilo calculado a partir de soluciones de referencia de esta sustancia preparadas preferentemente en DMDC exento de carbonato de dimetilo.

7.6 Observación 1

La muestra preparada con el estándar debe ser analizada inmediatamente.

7.7 Observación 2

Puede producirse una descomposición parcial del DMDC en contacto con el metal de las agujas de las jeringas tradicionales.

8. CONSERVACION

El DMDC debe conservarse en recipientes perfectamente herméticos, a una temperatura comprendida entre 20 y 30°C. Su duración de conservación es de 12 meses.

DIÓXIDO DE CARBONO
Carbónico (anhídrido)
Gas carbónico
Carbono dióxido
CO₂ = 44,01
Nº SIN: 290
(Oeno 26/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El dióxido de carbono se utiliza para las operaciones de "inertización" bajo la forma de gas puro o mezclado con nitrógeno.

2. ETIQUETADO

La naturaleza del gas y su pureza deben estar indicadas en el etiquetado, incluso en caso de mezcla, las condiciones de seguridad también se deben indicar sobre los embalajes.

3. CARACTERÍSTICAS

El dióxido de carbono es un gas incoloro, inodoro; su solución acuosa presenta un sabor débilmente ácido. A la temperatura de 0°C y presión de 760 mm de mercurio, 1 l de dióxido de carbono pesa 1,977 g.

A la temperatura de 20°C y una presión de 760 mm de mercurio, 1 l de agua disuelve 878 ml de dióxido de carbono, es decir 1,736 g CO₂.

Cuando se introduce una llama en un tubo que contiene dióxido de carbono, la llama se apaga.

Rellenar con dióxido de carbono una probeta de 50 ml; agitar con 10 ml de solución de hidróxido de bario: se forma un precipitado blanco que es soluble en ácido acético diluido al 10 p. 100 (R) con efervescencia.

4. ENSAYOS

La pureza global del dióxido de carbono debe alcanzar 99 p. 100 en volumen.

La investigación y análisis de impurezas gaseosas se pueden efectuar por cromatografía en fase gaseosa (método dado en el anexo).

El control del dióxido de carbono también puede efectuarse por los siguientes ensayos químicos.

Para las determinaciones descritas a continuación, los tubos que contienen dióxido de carbono se deben mantener al menos durante 6 horas, previamente a la extracción, a temperatura ambiente; los volúmenes a extraer se calculan teniendo en cuenta la temperatura y la presión en función de lo que se indica para 0°C y 760 mm de mercurio.

4.1 Ácido sulfuroso y dióxido de azufre

Hacer pasar durante 15 minutos, a velocidad constante, 1000 ml de dióxido de carbono en 50 ml de agua recién hervida y enfriada a temperatura ambiente; la alargadera debe tener un orificio de aproximadamente 1 mm de diámetro y sumergida hasta 2 mm del fondo del recipiente que contiene el agua, con una altura de 12 a 14 cm. Después de pasar el gas, verter el líquido en un recipiente A de un comparador y añadir 0,05 ml de solución de naranja de metilo (R). En el segundo recipiente B que contiene 50 ml de agua recientemente hervida y enfriada, añadir 1 ml de solución 0,01 M de ácido clorhídrico, después 0,05 ml de solución de naranja de metilo (R). El líquido del recipiente A no debe presentar una coloración roja más oscura que la presentada por el líquido del recipiente B.

4.2 Sulfuro de hidrógeno, fosforo de hidrógeno, arseniuro de hidrógeno y materias orgánicas reducidas

Hacer pasar, en condiciones análogas a las del ensayo anterior 1000 ml de dióxido de carbono en una mezcla de 10 ml de solución de nitrato de plata amoniacal (R), 3 ml de hidróxido de amonio concentrado (R) y 15 ml de agua destilada; no se debe producir ni enturbiamiento, ni oscurecimiento en comparación con una misma solución testigo a través de la cual no se pasa gas.

4.3 Oxígeno

Atravesar el tapón de un frasco, para investigar el oxígeno (ver "Nitrógeno"), con una aguja de 8/10 milímetros para inyecciones hipodérmicas (tener cuidado de no sumérgirla en el líquido) que servirá más tarde para la evacuación del gas después del borboteo. Introducir a continuación una segunda aguja del mismo diámetro que se sumerge en el líquido a través de la cual se hace pasar el gas carbónico. Después de un minuto borboteando, no se debe observar una coloración apreciable. En presencia de oxígeno, el líquido vira rápidamente a azul y el color se intensifica con el tiempo.

4.4 Monóxido de carbono

El límite del contenido en monóxido de carbono es de 10 µl/l, determinado según el método del anexo.

4.5 Aceite

El límite del contenido en aceite, expresado por la cantidad absorbida por una trampa adecuada según el método descrito en el anexo es de 0,1 mg/l.

4.6 Cuantificación

En un sistema graduado para medidas de gases, invertido en una cubeta de mercurio o en una bureta para gas graduada llena de mercurio, introducir un volumen aproximadamente de 100 ml de dióxido de carbono exactamente medido. Sobre la cubeta de mercurio con la ayuda de una pipeta con el extremo curvado o bien ejerciendo una presión de mercurio con un dispositivo adecuado, hacer pasar el gas en un tubo o en un recipiente absorbente, conteniendo una cantidad suficiente de una solución acuosa que contiene 40 g de hidróxido de potasio (R) en 100 ml. Agitar durante 5 minutos de manera que se asegure un contacto eficaz entre el líquido y el gas. Hacer pasar de nuevo el gas liberado del líquido acuoso en el sistema de medida de gases o en la bureta. Proceder entonces a la lectura del volumen residual a la misma temperatura y presión que al medir la toma de ensayo.

Poner nuevamente el gas residual en contacto con la solución alcalina y verificar, mediante una segunda lectura del volumen residual, que la absorción ha sido total. No debe quedar más de 1 p. 100 de gas no absorbido.

5. CONSERVACIÓN

El dióxido de carbono se conserva en cilindros de acero pintados de gris. La resistencia de estos cilindros se debe controlar periódicamente.

GELATINA
Proteinum ossii
Gelatina
(Oeno 13/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La gelatina es el producto de la hidrólisis parcial del colágeno contenido en las pieles, el tejido conjuntivo y los huesos de animales. La misma se presenta en placas, hojas flexibles, residuos, granos o polvo incoloro o ligeramente marrón amarillento.

Ciertas gelatinas son intencionalmente hidrolizadas en forma más profunda que la gelatina alimentaria habitual, para poder ser presentadas, ya sea en soluciones coloidales ya preparadas, o en forma de polvo atomizado soluble en frío. Estos productos no presentan la característica de producir un gel en contacto con el agua.

La estructura y el punto isoeléctrico de las proteínas de las gelatinas de pieles de bovinos son diferentes de aquellas provenientes de los huesos y cueros de cerdos.

Considerando los datos científicos disponibles y las normas y directivas internacionales, la gelatina debe provenir de fuentes animales conformes con las recomendaciones de la Oficina Internacional de las Epizootias (O.I.E).

Agentes de depuración y clarificación de los vinos, la gelatina reacciona con los taninos de los vinos o agregados y ciertos cationes, en función de su origen, del procedimiento de extracción y de su grado final de hidrólisis en el momento de su utilización en el vino.

A una calidad igual de gelatina, la calidad de la hidrólisis y los diferentes estadios de hidrólisis darán productos de comportamientos muy diferentes a nivel de la clarificación.

No existe un parámetro único para caracterizar las gelatinas en razón de su diversidad.

2. ETIQUETADO

El origen de la gelatina alimentaria de base debe ser indicado, así como las condiciones óptimas de conservación, la fecha límite de utilización y la concentración en SO₂.

3. SOLUBILIDAD.

La gelatina alimentaria de base se hincha en el agua fría. Ella se disuelve en el agua caliente (80 à 90 °C) y la solución se utiliza en jalea por enfriamiento.

4. LIMITES Y METODOS DE ENSAYO

4.1 Examen gustativo

La solución en agua caliente no debe tener ni olor ni gusto desagradable.

4.2 pH

Determinar el pH en la solución a 1 p. 100 mantenida a 40 °C; El pH de las soluciones coloidales está comprendido entre 3 y 4. El pH de las soluciones preparadas a partir de productos en polvo o en granos está comprendida entre 5 y 7.

4.3 Pérdida en la disecación

4.3.1 Gelatinas presentadas en estado sólido:

En una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro con tapa, poner 2 g de gelatina. Desechar en la estufa a 100-105°C durante 6 horas. Dejar enfriar en cápsula cubierta y en desecador. Pesar. O sea **p** g la cantidad de residuo seco ; la pérdida de peso no debe sobrepasar 15 p 100.

4.3.2 Gelatinas presentadas en estado líquido:

En una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro, poner alrededor de 10 g de solución coloidal de gelatina, pesar exactamente esta cantidad en cápsula cubierta, desecar en baño de agua a 100°C durante 4 horas y terminar la disecación en la estufa a 100-105°C durante 3 horas. Dejar enfriar en cápsula cubierta y en desecador. Pesar la cantidad de residuo seco. Es decir **p** g esta cantidad ; llevada a 100 g de solución coloidal, el residuo seco debe alcanzar 5 p. 100 como mínimo.

Todos los límites fijados aquí arriba se refieren al producto seco.

4.4 Cenizas

Incinerar el residuo seco del ensayo apartado 4.3 calentándolo progresivamente a 600°C en un horno de mufla después de haber espolvoreado la gelatina de 0,2 à 0,3 g de parafina sin cenizas destinada a evitar el desbordamiento de la masa.

El índice total de cenizas no debe ser superior a 2,0 p. 100.

4.5 Preparación de la solución para ensayos

Después de pesarlas, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y agregar agua destilada hasta obtener un volumen igual a 25 veces el peso de la gelatina seca. 1ml de esta solución contiene las materias minerales de 0,04 gr de gelatina seca.

4.6 Hierro

A 10 ml de solución preparada para experimentos (4.5) se agregan 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), una gota de permanganato de potasio a 1 p. 100 (R) y 2 ml de tiocianato de potasio a 5 p. 100 (R).

Si una coloración roja aparece, la misma debe ser inferior a aquella de un testigo preparado con 2 ml de solución de hierro (III) a 0,010 g por litro (R), 5,2 ml de agua y los mismos volúmenes de ácido clorhídrico concentrado (R) y de tiocianato de potasio a 5 p. 100 (R).

El contenido en hierro debe ser inferior a 50 mg/kg).

Es igualmente posible proceder a la dosificación del hierro por espectrofotometría de absorción atómica (ver método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional).

4.7 Cromo

En un matraz erlenmeyer de 50 ml, poner 10 ml de la solución preparada para experimentos (4.5), 1 ml de una solución de persulfato de amonio a 15 p. 100 (R), 0,5 ml de una solución de nitrato de plata a 1 p. 100 (R). Calentar y agregar gota a gota hasta la coloración rosa persistente del permanganato de potasio en solución a 3 p. 100 (R). Poner algunas gotas en exceso y mantener una ebullición suave durante 10 minutos. Si durante la ebullición la solución se decolora, agregar permanganato de potasio. Después de 10 minutos introducir gota a gota el ácido clorhídrico diluido 1/10 (R) hasta la completa decoloración.

Después del enfriamiento, transvasar a una matraz aforado de 20 ml. Agregar 2 ml de difenilcarbocida en solución a 0,05 p. 100 en el alcohol (R) que esté fresca. Llevar a 20 ml.

Si apareciera una coloración rojo violáceo, la misma debe ser inferior a aquella obtenida al tratar 4ml de solución de dicromato de potasio a 0,001 g de cromo por litro (R) por 2 ml de ácido

sulfúrico a 5 p. 100 (R), 5 ml de agua destilada, agregando, después de mezclar, 2 ml de solución de difenilcarbocida a 0,05 p. 100 en el alcohol (R) y llevando a 20 ml.

El contenido en cromo debe ser inferior a 10 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la dosificación del cromo por espectrofotometría de absorción atómica (ver método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional).

4.8 Cobre

2,5 ml de la solución preparada para experimentos (4.5), se ponen en un tubo de ensayo con 7,5 ml de agua, 0,5 ml de solución cítrica clorhídrica (R), 1 ml de hidróxido de amonio 5 M (R), 0,5 ml de reactivo al dietilditiocarbamato de sodio (R). Si una coloración amarilla aparece, la misma no debe ser más intensa que aquella obtenida agregando a 3,5 ml de una solución de cobre a 1 mg por litro (R) llevados a 10 ml, los mismos volúmenes de los mismos reactivos.

El contenido en cobre debe ser inferior a 30 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la dosificación del cobre por espectrofotometría de absorción atómica (ver método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional).

4.9 Zinc

A 1,25 ml de la solución preparada para experimentos (4.5), se agregan 3,75 ml de agua destilada, 5 ml de solución tapón acetato (R), 1 ml de solución de tiosulfato de sodio a 25 p. 100 (m/v) (R), 5 ml de solución de ditizona a 25 mg por litro en el diclorometano (R). Agitar durante 2 minutos. Separar la fase orgánica ; su coloración debe ser inferior a aquella obtenida al tratar con los mismos volúmenes de los mismos reactivos 2,5 ml de solución de zinc de 1 mg por litro.(R).

El contenido en zinc debe ser inferior a 50 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la dosificación del zinc por espectrofotometría de absorción atómica (ver método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional).

4.10 Plomo

En la solución preparada para experimentos (4.5), efectuar la dosificación según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional o por espectrofotometría de absorción atómica

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg).

4.11 Mercurio

Efectuar la dosificación según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional o por espectrofotometría de absorción atómica.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 0,15 mg/kg.

4.12 Arsénico

Efectuar la dosificación según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional o por espectrofotometría de absorción atómica.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.13 Cadmio

Efectuar la dosificación del cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional o por espectrofotometría de absorción atómica.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 0,5 mg/kg.

4.14 Dosificación del nitrógeno total

Efectuar la dosificación del nitrógeno total según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El nitrógeno total debe ser superior a 14 p. 100 del peso de la gelatina seca.

4.15 Dióxido de azufre

Gelatina presentada en forma seca

El dióxido de azufre, liberado por un pequeño exceso de ácido fosfórico, es llevado a ebullición bajo reflujo por una corriente de nitrógeno, oxidado y fijado por una solución de peróxido de hidrógeno, y dosificado por acidimetría en presencia de azul de bromofenol, según el método de referencia del *Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y los mostos*, con una toma de ensayo de 2 g de gelatina sólida y sobre 10 ml de solución diluída a 10 p. 100 de gelatina.

El contenido en dióxido de azufre no debe ser superior a 50 mg/kg.

Gelatina presentada en forma de solución coloidal

Las formas líquidas son estabilizadas con SO₂ y no deben contener alcohol benzílico ; el contenido en dióxido de azufre no debe ser superior a 4 g/litro.

4.16 Urea

Efectuar la dosificación de la urea según el método enzimático de Boehringer. Contenido inferior a 2,5 g/kg.

4.17 Control bacteriológico

Proceder como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Límite : microorganismos viables totales : menos de 10^4 UFC/g

4.18 *Escherichia coli*

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 1 g.

4.19 Salmonelas

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 25 g.

4.20 Coliformes

Ausencia controlada sobre una muestra de 1 g. Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada en una muestra de 1 g.

4.21 Esporas de microorganismos anaerobios sulfito-reductores *

Ausencia controlada en una muestra de 1 g.

4.22 Esporas de *Clostridium perfringens* *

Ausencia controlada en una muestra de 1 g.

4.23 Estafilococos (*Staphylococcus aureus*)

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada en una muestra de 1 g.

4.24 Levaduras

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

4.25 Bacterias lácticas totales

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

4.26 Bacterias acéticas

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

4.27 Mohos

Proceder al recuento tal como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
Contenido límite: 10^3 UFC/g de preparación.

5. CONSERVACION

La gelatina sólida debe ser conservada en recipiente cerrado o en bolsa impermeable a la humedad en locales templados.

Las gelatinas presentadas en soluciones coloidales prontas para su utilización pueden contener agentes conservadores autorizados en los vinos y sus concentraciones respectivas deben ser indicadas en la etiqueta.

* Según método a determinar por el grupo de expertos "Microbiología"

GOMA ARÁBIGA
Gumme arabicum
Acaciae gummi
N° SIN: 414
(Oeno 27/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

La goma llamada arábica es una exudación gomosa, endurecida por el aire, que fluye de forma natural o por incisión del tronco y de las ramas de *Acacia senegal* (L. Willdenow) y otras especies de Acacia de origen africano. Está constituida por lágrimas esféricas, ovaladas y a veces irregulares, de un diámetro de 1 a 3 cm.

Esta goma arábica es presentada en forma de polvo o bien en solución coloidal.

Producto destinado a mejorar la estabilidad de los vinos en botella.

La goma arábica está constituida por un polisacárido rico en galactosa y arabinosa y de una pequeña fracción proteica que le confiere su poder estabilizador frente a las precipitaciones de las materias colorantes y las quiebras férricas y cuprosas.

Existen límites concernientes a la dosis de goma arábica utilizable en los vinos.

2. ETIQUETADO

La concentración de las soluciones de goma arábica y el contenido en dióxido de azufre deben estar indicadas (existen límites con respecto al contenido en dióxido de azufre de los vinos), así como las condiciones de conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Las lágrimas de goma arábica son más o menos desmenuzables rompiéndose en trozos de fractura neta. Las lágrimas enteras presentan a menudo una pequeña cavidad central.

La goma arábica en polvo es inodora, insípida y de color blanco o amarillento de brillo vítreo y trasparente. Se disuelve lentamente en 2 veces su peso de agua y solo deja un pequeño resto de residuos vegetales. Es insoluble en el alcohol.

La goma arábica en solución es un líquido blanco amarillento, viscoso, translúcido, ligeramente ácido; precipita abundantemente cuando se le añade un volumen igual de etanol.

4. ENSAYOS

4.1. Pérdida por desecación

4.1.1. Goma arábica en polvo

Poner 5 g de goma arábica en una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro y colocarla en una estufa a 100-105°C durante 5 h. La pérdida de peso no debe ser superior al 15%.

4.1.2. Goma arábica en solución

Poner 10 g de goma arábica en solución en una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro. Colocarla en un baño de agua a 100°C durante 4 h y luego pasarla a una estufa a 100-105°C durante 3 h. La cantidad de residuo seco debe ser como mínimo del 10%.

Los límites fijados a continuación se expresan sobre el producto seco.

4.2. Cenizas

Incinerar el residuo seco a 550-600°C. El peso de las cenizas no debe ser superior al 4%.

4.3. Preparación de la solución para los ensayos

Las cenizas de los 5 g de goma arábica en polvo o las obtenidas a partir de un peso de solución correspondiente a 5 g de goma sólida son recuperadas con 2 ml de ácido clorhídrico conc. (R) agitando y calentando en un baño de agua a 100°C para favorecer la solubilización. Transvasar a un matraz aforado de 50 ml y enrasar a 50 ml con las aguas de lavado de la cápsula de incineración.

4.4. Hierro

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos según (4.3), añadir 1 gota de permanganato de potasio al 1% (R), 1 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5% (R). La coloración obtenida debe ser inferior a la de un testigo preparado con 6 ml de una solución de hierro(III) a 10 mg/l (R), 4 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5% (R).

El contenido de hierro debe ser inferior 60 mg/kg.

Observación: también es posible dosificar el hierro por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el "Recueil".

4.5. Cadmio

En la solución preparada para los ensayos (4.3), determinar el cadmio según el método descrito en el anexo.

El contenido de cadmio debe ser inferior 1 mg/kg.

4.6. Plomo

En la solución preparada para los análisis (4.3), determinar el plomo mediante el método del "Recueil".

El contenido de plomo debe ser inferior 5 mg/kg.

4.7. Mercurio

En la solución preparada para los análisis (4.3), determinar el mercurio según el método descrito en el anexo.

El contenido de mercurio debe ser inferior 1 mg/kg.

4.8. Arsénico

Mineralizar por el método nitrosulfúrico 0,5 g de goma arábica seca y determinar el arsénico según el método descrito en el anexo.

El contenido de arsénico debe ser inferior 3 mg/kg.

4.9. Nitrógeno total

Introducir 5 g de goma arábica en un matraz de mineralización de 300 ml con 15 ml de ácido sulfúrico conc. (R) y 2 g de catalizador de la mineralización (R). Continuar la determinación como se indica en el anexo.

En el caso de solución de goma arábica, pesar un peso correspondiente a 5 g de residuo seco, evaporar casi a sequedad y seguir como se indica en el párrafo anterior.

El contenido de nitrógeno debe ser inferior 4 g/kg.

El contenido de nitrógeno para la goma de *Acacia senegal* debe estar comprendido entre 0,25 y 0,4% (m/m) y para la goma de *Acacia seyal* 0,1-0,2 % (m/m).

4.10. Almidón y dextrina

Llevar a ebullición 20 ml de solución que contenga 2 g de goma arábica seca, enfriar, añadir 0,2 ml de yodo 0,05 M. No debe haber aparición de color azul o pardo-rojizo.

4.11. Tanino

A 10 ml de solución que contenga 1 g de goma arábica seca, añadir 0,1 ml de sulfato de hierro(III) (R). Se forma un precipitado gelatinoso pero ni el precipitado ni el líquido sobrenadante deben estar coloreados de azul oscuro.

4.12. Rotación específica

La rotación específica se mide a 589 nm (línea del sodio) y se relaciona con una solución de goma de 1 g/ml en una longitud de 1 dm:

- $26^\circ \leq [\alpha]_D^{20^\circ} \leq -34^\circ$, para la goma de *Acacia senegal*

$40^\circ \leq [\alpha]_D^{20^\circ} \leq 50^\circ$, para la goma de *Acacia seyal*

4.13. Salmonelas

Debe haber una ausencia de salmonela en 1 g de muestra según el método descrito en el anexo.

4.14. Escherichia coli

Debe haber una ausencia de *Escherichia coli* en 1 g de muestra según el método descrito en el anexo.

4.15. Productos de hidrólisis

La manosa, la xilosa y el ácido galacturónico no deben estar presentes (determinados por cromatografía).

4.16. Test de la eficacia de la goma arábica

4.16.1. Principio:

Determinación de la dosis de goma arábica necesaria para impedir la floculación de una solución coloidal de hexacianoferrato(II) de hierro(III) en medio hidroalcohólico y con una sal de calcio.

4.16.2. Productos:

Ác. tartárico cristalizado: PM=150,05

Sulfato de potasio purificado (K_2SO_4): PM=174,25

Cloruro de calcio dihidrato ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$): PM=143,03

Cloruro de hierro(III) cristalizado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$): PM=270,32

Hexacianoferrato(II) de potasio ($K_4[Fe(CN)_6]$): PM=422,4

Ác. metatátrico

Solución de hidróxido de sodio 1M

Etanol à 95% vol

Solución de peróxido de hidrógeno de 20 volúmenes

4.16.3. Protocolo:

Solución de goma arábica de 5 g/l (A)

Disolver 5 g de goma arábica en 100 ml de agua destilada y luego diluir esta solución 1/10 con agua destilada.

Solución de hierro(III) de 2,5 g Fe/l (B)

Pesar exactamente 1,21 g de cloruro de hierro(III) y verter en un matraz aforado de 100 ml. Llenar hasta unos 3/4 del matraz con agua destilada y añadir 0,1 ml de solución de peróxido de hidrógeno de 20 volúmenes. Enrasar con agua destilada.

Solución de cloruro de calcio de 27 g/l (C)

Pesar exactamente 2,7 g de cloruro de calcio dihidrato y disolverlos en 100 ml de agua destilada.

Matriz hidroalcohólica (D)

Llenar hasta la mitad, con agua destilada, un matraz aforado de 1 l y disolver en el siguiente orden:

- Ácido tartárico: 2,5 g
- K₂SO₄: 1 g (asegurar la disolución completa antes de añadir el siguiente)
- Ácido metatátrico: 50 mg
- Etanol à 95% vol: 120 ml
- NaOH 1 M: 10 ml

Ajustar el pH de la matriz a 3,5 por adición de NaOH 1 M (1-2 ml). Homogeneizar y completar con agua destilada hasta 1l.

Solución de hexacianoferrato(II) de potasio de 12,5 g/l (E)

Pesar exactamente 0,25 g de hexacianoferrato(II) de potasio en un matraz aforado de 20 ml y completar con agua destilada (esta solución debe ser preparada extemporáneamente).

4.16.4. Test:

En el matraz que contiene el litro de la matriz hidroalcohólica (D), añadir 2 ml de solución de hexacianoferrato(II) de potasio (E). Tapar y agitar. Añadir enseguida 1 ml de solución de cloruro de hierro(III) (B). Agitar y dejar en reposo una ½ h: solución S (color azul).

Verter en una serie de tubos de ensayo (capacidad > 50 ml) volúmenes crecientes de solución de goma de 5 g/l (A): 0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1,0 - 1,25 - 1,5 - 1,75 - 2,0 - 2,5 - 3,0 ml. Estos volúmenes corresponderán a concentraciones finales de goma arábica de 0 - 25 - 50 - 75 - 100 - 125 - 150 - 175 - 200 - 250 y 300 mg/l.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Goma arábica

Repartir enseguida en cada tubo 50 ml de solución S. Agitar y dejar reposar 5 min.

Verter enseguida en cada tubo 1 ml de solución de cloruro de calcio (C). Tapar y agitar.

Almacenar los tubos, protegidos de la luz, a temperatura ambiente ($\cong 25^{\circ}\text{C}$).

Lectura al cabo de 3 días :

El tubo testigo presenta un depósito azul intenso con un sobrenadante prácticamente incoloro. Este depósito será más o menos importante en los siguientes en función de la eficacia y la dosis de goma añadida. Habrá un tubo a partir del cual la solución será de color homogéneo sin ningún depósito azul en la base. Éste corresponderá a la dosis en mg/l de goma arábica eficaz a utilizar en los vinos.

5. CONSERVACIÓN

La goma arábica sólida, si se almacena protegida de la humedad en un embalaje cerrado y en locales templados, tiene un periodo de conservación muy largo. En cambio las soluciones tienen una vida limitada según de la presencia de dióxido de azufre.

HUEVO (ALBÚMINA DE)
Ovalbumine
Albumen ovi
(Oeno 32/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

La albúmina de huevo, obtenida por desecación de claras de huevos frescos, se presenta bajo la forma de polvo blanco, fino, muy ligero, no totalmente soluble en agua, pero soluble en soluciones alcalinas.

La albúmina de huevo se utiliza como agente de encolado en la clarificación de los vinos.

La albúmina de huevo se presenta en forma de polvo o "spray", y también puede ser utilizado directamente el albumen de huevos frescos.

La albúmina de huevo es precipitada por el tanino. En general, hacen falta 2 g de tanino puro para precipitar 1 g de albúmina de huevo.

2. ETIQUETADO

Las condiciones de conservación, de higiene y de seguridad deben estar indicadas en la etiqueta así como la fecha de caducidad.

3. CARACTERIZACIÓN

3.1. Preparación de una solución a 10 g/l y caracteres

3.1.1. Preparar una solución 10 g/l de albúmina de huevo en agua disolviendo el polvo progresivamente con adición de pequeñas cantidades de agua. Esta solución no debe tener gusto u olor desagradable.

Dicha solución a un pH entre 6,5 y 7, presenta abundante espuma por agitación y se coagula por el calor en presencia de sales neutras.

La albúmina de huevo es precipitada de sus soluciones por el sulfato de amonio disuelto hasta saturación, por el ácido nítrico y por el alcohol.

3.1.2. En el caso de albúmina de huevo fresco, el pH estará comprendido entre 9 y 9,5.

3.2 Investigación de goma, dextrina y gelatina

A 10 ml de la solución de 10 g/l (3.1), añadir 0,5 ml de ácido nítrico conc. (R), calentar a 50-60°C formandose un precipitado, dejar

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Huevo (albúmina de)

enfriar y filtrar. El filtrado debe ser incoloro y límpido, no debe colorearse por adición de una solución yodo-yodurada (R) y no debe formarse un anillo opalescente cuando se adiciona suavemente y sin mezclar 5 ml de alcohol del 95% vol a 5 ml del filtrado,.

3.3. Pérdida por desecación

En una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro con tapadera, introducir 2 g de albúmina de huevo. Desecar en la estufa a 100-105°C durante 6 h. Dejar enfriar la cápsula abierta en un desecador. Pesar. Sea **p** el peso del residuo seco, la pérdida de peso no debe depasar el 10%.

En el caso de albúmina de huevo fresco, el extracto seco real debe estar comprendido entre el 11 y 12%.

Todos los límites fijados en los ensayos siguientes se ha de expresar sobre el producto seco.

3.4. Cenizas

Incinerar el residuo seco del ensayo 3.4 calentándolo progresivamente a 600°C en la mufla después de haber espolvoreado la albúmina de huevo con 0,2-0,3 g de parafina sin cenizas para evitar el desbordamiento de la masa durante la calcinación.

El porcentaje de cenizas no debe ser superior a 6,5 %.

3.5. Nitrógeno total

Determinar según el método descrito en el anexo.

El contenido de nitrógeno total debe ser superior al 12%.

4. ENSAYOS

4.1. Preparación de la solución para los ensayos

Después de pesar las cenizas, disolverlas en 2 ml de ácido clorhídrico conc. (R) y 10 ml de agua. Para facilitar la disolución calentar y añadir agua destilada hasta 50 ml. 1 ml de esta solución contiene las materias minerales de 0,04 g de albúmina de huevo seca.

4.2. Metales pesados

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (4.1), añadir 2 ml de solución tampón pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (R). No debe producirse ningún precipitado. Si aparece una coloración, ésta debe ser inferior a aquella que presenta el testigo preparado como se indica en el anexo.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Huevo (albúmina de)

El contenido de metales pesados expresados en plomo debe ser inferior a 10 mg/kg.

4.3. Arsénico

A partir de la solución preparada para los ensayos (4.1), dosificar el arsénico según el método que figura en el anexo.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

4.4. Plomo

A partir de la solución preparada para los ensayos (4.1), dosificar el plomo según el método que figura en el "Recueil".

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

4.5 Mercurio

A partir de la solución preparada para los ensayos (4.1), dosificar el mercurio según el método que figura en el anexo.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5 CONSERVACION

La albúmina de huevo debe ser conservada en embalajes que aseguren una protección eficaz contra la humedad y las contaminaciones exteriores, y en locales templados.

LEVADURAS SECAS ACTIVAS (L.S.A.)
(Oeno 16/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Las levaduras son utilizadas para la inoculación de los mostos o de los vinos.

El índice de inoculación se deja a criterio del usuario.

Las levaduras utilizadas deben haber sido aisladas de las uvas, de los mostos o de los vinos o de los cultivos derivados del cruzamiento de estas mismas levaduras (cultivos madre originales) que deben ser conservados en condición de estabilidad genética. La obtención y la utilización de levaduras enológicas genéticamente modificadas (O.G.M.) deben haber sido objeto de la autorización previa de una autoridad competente.

2. ETIQUETADO

Deben figurar en la etiqueta:

- El nombre del género y de la especie, así como la referencia a la cepa, atribuida por un organismo oficial de registro de microorganismos o por instancias internacionales, el origen y el seleccionador de la cepa y eventualmente el autor que la aisló.
- Las instrucciones de utilización o el método de reactivación y los eventuales aditivos preconizados por el fabricante.
- La cantidad de células revivificables por gramo (UFC determinado según anexo) de polvo garantizada por el fabricante, la pérdida de vitalidad por mes de conservación en las condiciones de temperatura, de humedad y de aereación definidas, el número de lote así como la fecha límite de utilización y las condiciones de conservación.
- La indicación de que las levaduras han sido obtenidas por modificaciones genéticas y el carácter que ha sido modificado (si es el caso).

3. CARACTERISTICAS

Se presentan en forma de gránulos redondos o vermiculados obtenidos por secado de un cultivo concentrado de levaduras.

4. LIMITES Y METODOS DE ENSAYO

4.1 Humedad

Medida por la pérdida de peso de 5 g de producto, secado a 105 °C hasta peso constante (alrededor de 3 horas).

El contenido máximo debe ser inferior a 8 %.

4.2 Metales pesados

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 10 mg/kg de materia seca, expresado en plomo.

4.3 Plomo

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 5 mg/kg de materia seca.

4.4 Mercurio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.5 Arsénico

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 3 mg/kg de materia seca.

4.6 Cadmio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

4.7 Micotoxinas¹

4.8 Levaduras revivificables

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo a la presente resolución).

El contenido debe ser superior o igual a 10¹⁰ UFC/g.

¹ Punto a estudiar ulteriormente por la Subcomisión de los métodos de análisis y de apreciación de los vinos.

4.9 Levaduras de una especie diferente de la cepa indicada

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

El contenido debe ser inferior a 0,01% de las levaduras totales revivificables.

4.10 Mohos

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10^3 UFC/g de polvo.

4.11 Bacterias lácticas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10^4 UFC/g

4.12 Bacterias acéticas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10^3 UFC/g.

4.13 Salmonellas

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La ausencia debe ser controlada sobre una muestra de 25 g

4.14 *Pseudomonas aeruginosa*²

4.15 *Escherichia coli*

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La ausencia debe ser controlada sobre una muestra de 1 g.

² Punto a estudiar ulteriormente por el grupo de expertos
« Microbiología del vino »

4.16 Estafilococos

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional. (método en anexo a la presente resolución).

La ausencia debe ser controlada sobre una muestra de 1 g.

4.17 Coliformes

Proceder al recuento según el método que figura en el Capítulo II del Codex enológico internacional (método en anexo de la presente resolución).

La cantidad debe ser inferior a 10 UFC/g.

5. ADITIVOS

Los aditivos deben ser conformes a las reglamentaciones en vigor.

6. CONSERVACION

No conservar en acondicionamiento abierto ni/o a temperaturas superiores a 10 °C.

Las condiciones de conservación serán diferentes según los modos de preparación y de acondicionamiento.

En todos los casos, respetar las prescripciones del fabricante.

LISOZIMA
Muramidasa
N° SIN :1105 (enzima 3.2.1.17)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La lisozima (Clorohidrato de Lisozima) es extraída de la clara de huevo de gallina comestible. Es utilizado como inhibidor del crecimiento de las bacterias. Puede ser utilizada en los mostos y los vinos. La dosis a utilizar es limitada.

La lisozima no contiene ni substancias, ni microorganismos ni actividades enzimáticas colaterales que pueden:

- ser nocivas para la salud,
- ser nocivas para la calidad de los productos tratados,
- llevar a la formación de productos indeseables, o favorecer la intervención de fraudes.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe ser indicada en la etiqueta, así como también las condiciones de seguridad, de conservación y la fecha límite de utilización.

3. COMPOSICION

Es un polipéptido natural constituido por 129 aminoácidos : 21 ácidos aspárticos, 5 ácidos glutámicos, 12 alaninas, 11 argininas, 8 cisteínas, 3 fenilalaninas, 12 glicocolas, 6 isoleucinas, 1 histidina, 8 leucinas, 6 lisinas, 2 prolinas, 2 metioninas, 10 serinas, 3 tirosinas, 7 treoninas, 6 triptofanes y 6 valinas.

Tiene un peso molecular de 14.700 Daltons.

Su contenido en agua debe ser igual o inferior a 6 %.

4. CARACTERES

Se presenta en forma de polvo cristalino, blanco, inodoro, de un sabor azucarado.

5. SOLUBILIDAD

La lisozima es soluble en el agua e insoluble en los solventes orgánicos.

6. MARCAS DE IDENTIDAD

Una solución acuosa a 2 % debe presentar un pH comprendido entre 3,0 y 3,6.

Una solución acuosa que contiene 25 mg/100 ml presenta un máximo de absorción a 281 nm y un mínimo a 252 nm.

7. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Su actividad enzimática puede hidrolizar la relación β -(1-4) entre el ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina de las paredes celulares de las bacterias Gram-positivas.

La concentración mínima de la lisozima es igual a 95 %. No existe actividad enzimática secundaria.

8. FUENTE DE LA ENZIMA Y MODO DE PRODUCCION

La enzima es extraída de la clara de huevo de gallina comestible por un procedimiento de separación sobre resina permutadora de iones.

La pureza microbiológica garantiza la seguridad para su utilización en el campo alimentario. La clara de huevo utilizada para la preparación de la enzima es compatible con los parámetros establecidos por los organismos de control y es tratada en conformidad con las prácticas de higiene de la fabricación.

9. SOPORTES DILUYENTES , AGENTES DE CONSERVACION Y ADITIVOS.

No existe agente de conservación puesto que la forma cristalina asegura la estabilidad.

10. EXPERIMENTOS

10.1 Cenizas sulfúricas

Determinada como se indica en anexo, la cantidad de cenizas sulfúricas de la lisozima no debe ser superior a 1,5 p. 100.

10.2 Nitrógeno total

Determinada como se indica en anexo, la cantidad de nitrógeno total debe estar comprendida entre 16,8 et 17,8% sobre materia seca.

10.3 Preparación de la solución para experimentos

Disolver 5 g de lisozima en 100 ml de agua.

10.4 Metales pesados

A 10 ml de solución preparada para experimentos (10.3), agregar 2 ml de solución tampón pH 3,5 (R), 1,2 ml de reactivo a la tioacetamida (R). Ningún precipitado debe producirse. Si una coloración marrón aparece, ella debe ser inferior a aquella presentada por el testigo preparado como se indica en anexo (Contenido en metales pesados, expresado en plomo, inferior a 10 mg/kg).

10.5 Arsénico

En 2 ml de solución preparada para experimentos (10.3), buscar el arsénico por el método indicado en anexo. (Contenido en arsénico inferior a 1 mg/kg).

10.6 Plomo

A partir de la solución preparada para experimentos (10.3) dosificar el plomo según el método descrito en el Compendio. (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

10.7 Mercurio

A partir de la solución preparada para experimentos (10.3) dosificar el mercurio según el método descrito en anexo (Contenido en mercurio inferior a 1 mg/kg)

10.8 Contaminantes biológicos

Determinación efectuada según el método descrito en anexo.

Bacterias totales	inferior a 10^3 UFC por g de preparación
Coliformes	max. 10 p g de preparación
<i>Escherichia coli</i>	ausencia verificada sobre una muestra de 1 g
<i>St. aureus</i>	ausencia verificada sobre una muestra de 1 g
Salmonellas	ausencia verificada sobre una muestra de 25 g
Levaduras	contenido límite 10^2 UFC por g de preparación
Bacterias lácticas totales	contenido límite : ausencia verificada sobre una muestra de 10 g de préparation
Bacterias acéticas	contenido límite 10^2 UFC por g de preparación
Moho	contenido límite 10^2 UFC por g de. preparación

11. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA LISOZIMA EN EL VINO
(Determinación turbidimétrica)

11.1 Principio.

El procedimiento analítico es el establecido por FIP (1997), con las modificaciones aportadas por FORDRAS. El método se basa en los cambios de la turbiedad de una suspensión de *Micrococcus luteus* ATCC 4698 inducidos por la acción lítica de la lisozima.

En condiciones normales de experimentación, los cambios mencionados aquí arriba son proporcionales a la cantidad de lisozima en el medio.

11.2 Substrato

Hacer una suspensión (40 - 60 mg) de *Micrococcus luteus* ATCC 4698 (Boehringer) en polvo en algunos ml de solución tampón fosfata M/15 pH 6,6 ($\pm 0,1$), para obtener una suspensión homogénea y completar a 100 ml con el mismo tampón (utilizar la agitación magnética o un baño ultrasónico ; no utilizar un agitador electromagnético).

La cantidad exacta de *Micrococcus luteus* a extraer depende del tipo de espectrofotómetro utilizado.

Preparar un control con 5 ml de tampón y 5 ml de suspensión de *Micrococcus luteus* y medir la absorbancia de esta suspensión con ayuda de un espectrofotómetro a 540 nm contra una suspensión de control fosfatada. La absorbancia no debe ser inferior a 0,800.

Si la lectura no correspondiera a lo descrito, se debe adaptar el contenido de *Micrococcus luteus* en la suspensión y medir la absorbancia deseada.

N.B.: Con un espectrofotómetro sensible los valores de absorbancia de la solución dada aquí arriba son de 0,800 – 0,900. Aparatos menos sensibles dan una absorbancia inferior con esta misma suspensión (0,500 – 0,600). En este caso no se debe aumentar la cantidad del sustrato para obtener los valores iniciales de absorbancia de 0,800 – 0,900 dado que la reproductibilidad y la linealidad de la dosificación no son fiables.

11.3 Preparación de la solución standard

11.3.1 Disolver en agua unos 50 mg de clorhidrato de lisozima, pesar exactamente y completar a 100 ml en un matraz aforado.

11.3.2 Diluir 5 ml de la solución 11.3.1 con agua hasta 50 ml.

11.3.3 Diluir 2 ml de esta solución con un tampón fosfato M/15 hasta 100 ml para obtener una solución a 1 mg /l de lisozima (solución estándar).

11.4 Solución a analizar

En relación con la concentración supuesta de la lisozima, diluir la muestra de vino con el tampón fosfato M/15 con la finalidad de obtener la misma concentración que la solución estándar (1 mg/l).

11.5 Procedimiento

Preparar las soluciones siguientes en tubos de ensayo de 180 × 80 mm.

Solución estándar y a analizar	Tampón M/15	Concentración en lisozima
2,0 ml	3,0 ml	0,4 mg/l
2,8 ml	2,2 ml	0,56 mg/l
4,0 ml	1,0 ml	0,8 mg/l

Se aconseja repetir cada dilución tres veces para la solución estándar así como aquella a analizar.

Preparar dos tubos de ensayo con 5 ml de tampón como testigo de la solución de *Micrococcus luteus*. Utilizar el primer tubo testigo al principio y el segundo al final del experimento.

Al cabo de 30 segundos exactamente, agregar en cada tubo de ensayo 5 ml de suspensión de *Micrococcus luteus*, que debe ser mantenida en agitación manual para evitar el decantamiento. Agitar al Vortex los tubos y sumergirlos exactamente 12 minutos en un baño de agua a 37°C (± 5°C).

Las cantidades finales de lisozima contenidas en los tubos serán 0,2 – 0,28 – 0,4 mg/l.

Después de la incubación, extraer a 30 segundos de intervalo los tubos en el mismo orden en el que fueron agregados al baño de agua.

Agitar y leer la absorbancia con un espectrofotómetro a 540 nm para el vino blanco y a 740 nm para el vino tinto contra un testigo de tampón.

Normalmente, el experimento es aceptable cuando la diferencia entre los valores de absorbancia de los dos tubos de ensayo testigos es inferior a 5%.

11.6 Cálculo

Con los valores obtenidos, preparar una curva estándar, indicando en orden los valores medios de absorbancia para cada concentración de la solución estándar y en abscisa las concentraciones en lisozima sobre una escala logarítmica.

Anotar los resultados obtenidos en las diluciones de la solución a analizar.

Trazar dos líneas rectas : una entre los puntos obtenidos para la solución estándar y la otra entre los puntos de la solución a analizar. Las dos líneas deben ser paralelas, si no, la dosificación es incorrecta.

Trazar luego una línea paralela al eje de las abscisas de manera tal que corte las dos líneas rectas aproximadamente a la mitad del límite extremo de la dosificación.

A dos puntos de intersección, corresponden dos concentraciones sobre la abscisa (C_{st} concentración de la curva estándar- C_x concentración de la curva de la solución a analizar).

Calcular la actividad como sigue:

$$\text{Concentración de la lisozima } (\mu\text{g/ml}) = \frac{C_{st} \times D}{C_x}$$

o

C_{st} = concentración de la solución estándar

C_x = concentración de la solución a analizar

D = factor de dilución

12. DETERMINACION DE LA LISOZIMA EN EL VINO (Determinación par HPLC)

La lisozima residual puede ser dosificada por HPLC según el método descrito en el Compendio sobre Métodos Internacionales de Mostos y Vinos.

13. CONSERVACION

La lisozima debe ser conservada a temperatura normal en recipiente cerrado herméticamente y al abrigo de la humedad.

14. BIBLIOGRAFIA

FIP (1997), Pharmaceutical Enzymes, A.Lowers et S.Scharpe ed. 1997, vol. 84 pages 375/379.

TROZOS DE MADERA DE ROBLE
(Eno 3/2005)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Trozos de madera de roble utilizados para la elaboración de los vinos y para transmitir al vino ciertos constituyentes provenientes de la madera de roble en las condiciones establecidas por la reglamentación.

Los trozos de madera deben provenir exclusivamente de las especies de *Quercus*

Pueden dejarse al natural o pueden ser tostados de manera calificada como ligera, media o fuerte, pero no deben haber sufrido combustión, incluida la superficie, no deben ser carbonosos ni friables al tacto.

No deben ser adicionados de ningún producto destinado a aumentar su poder aromatizante natural o sus compuestos fenólicos extraíbles.

Igualmente, dichos trozos de madera no deben haber sufrido ningún tratamiento químico, enzimático o físico aparte del tostado.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar el origen varietal de roble y la intensidad del eventual calentamiento, las condiciones de conservación y las consignas de seguridad.

3. DIMENSIONES.

La dimensión de estas partículas debe ser tal que al menos 95 % en peso sean retenidas en el tamiz cuyas mallas sean de 2 mm (es decir 9 mesh).

4. PUREZA

Los trozos de madera de roble no deben liberar sustancias en concentraciones que pudieran acarrear eventuales riesgos para la salud.

5. CONSERVACION

Los trozos de madera de roble deben ser conservados en locales suficientemente secos exentos de

MADERAS DE LOS RECIPIENTES DESTINADOS A CONTENER VINO
(ENO 4/2005)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Maderas de los recipientes utilizados en la elaboración, la conservación o el transporte de los vinos.

Las piezas de madera deben proceder exclusivamente de las especies reconocidas como aptas para conservar el vino (castaño, roble)

Pueden dejarse al natural o pueden ser tostados de una manera calificada como ligera, media o fuerte, pero no deben haber sufrido combustión, incluida la superficie, y no deben ser carbonosas ni friables al tacto.

No se les debe añadir ningún producto para aumentar su poder aromático natural ni sus compuestos fenólicos extraíbles.

No deben haber sufrido ningún tratamiento químico, enzimático o físico aparte del tostado si se trata de recipientes nuevos.

Si han sido objeto de tratamientos químicos o físicos, en particular para la limpieza de los recipientes ya utilizados, debe comprobarse la absoluta inocuidad de dichos tratamientos para materiales en contacto con los alimentos y, en particular, que se ha realizado un lavado suficiente para eliminar cualquier resto de algunos productos no autorizados en el vino.

2. MARCADO Y/O DOCUMENTO DE ACOMPAÑAMIENTO DEL RECIPIENTE

El marcado o el documento de acompañamiento del recipiente deben mencionar el origen de la o las especies botánicas de la madera, la intensidad del eventual calentamiento y las instrucciones de seguridad.

3. PUREZA

Los recipientes de madera no deberán liberar sustancias en concentraciones que pudieran acarrear eventuales riesgos para la salud.

4. CONSERVACIÓN

Los recipientes de madera deben lavarse antes de su primer uso y conservarse después en condiciones higiénicas apropiadas para evitar cualquier desarrollo de microorganismos indeseables cuando

MANOPROTEINAS DE LEVADURAS

(Oeno 26/2004)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Las manoproteínas se extraen de las paredes celulares de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* por métodos físico-químicos o enzimáticos.

Las manoproteínas tiene diferentes estructuras según su masa molecular, su grado y tipo de glicosilación y su carga. Según su modo de extracción, poseen diferentes actividades de estabilización tártrica y/o proteica en los vinos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe indicar el campo de aplicación (estabilización tártrica y/o proteica de los vinos), las condiciones de seguridad y de conservación, así como la fecha límite de utilización.

Para las preparaciones en solución, tanto la concentración en manoproteínas como el contenido de dióxido de azufre, deben indicarse .

3. CARACTERIZACION

3.1 – Las manoproteínas se presentan ya sea bajo una forma de polvo generalmente microgranulado de color blanco o beige, inodoro, o en solución coloidal de color amarillento, traslúcido.

3.2 – Las manoproteínas son solubles en agua e insolubles en etanol. En solución precipitan cuando se agrega un volumen de etanol.

3.3 – Poder rotatorio

El poder rotatorio específico se mide a 589 nm (línea D del sodio) en relación a una solución de manoproteínas de 10 g/l bajo un camino óptico de 1dm.

Ciertas manoproteínas cuyo poder rotatorio $[\alpha]_D^{20^\circ C}$ está comprendido entre 80° y 150° se distinguen de la goma arábiga cuyo poder rotatorio es inferior a 50°.

Otras preparaciones pueden diferenciarse solamente por la composición centesimal de azúcares (ver punto 4.12).

4. ENSAYOS

4.1 Pérdida en la desecación

4.1.1 Manoproteínas en polvo :

Poner 5 g de manoproteínas en una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro. Colocar en una estufa a 100-105°C durante 5 horas. La pérdida de peso no debe ser superior a 15 p.100.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Manoproteínas de levaduras

4.1.2 Manoproteínas en solución :

Colocar 10 g de solución de manoproteínas en una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro. Poner sobre un baño de agua a 100°C durante 4 horas, luego colocar en una estufa a 100-105°C durante 3 horas. La cantidad de residuo seco debe ser de al menos 10 p. 100.

Los límites fijados a continuación se refieren al producto seco.

4.2 Cenizas

Incinerar el residuo seco a 550-600°C. El contenido de cenizas debe ser inferior a 8 p.100.

4.3 Preparación de la solución para el ensayo

Preparar una solución de manoproteínas de 10g/l en agua.

En el caso de solución de manoproteínas, pesar un peso correspondiente a 5 g de residuo seco, evaporar casi a sequedad y luego disolver nuevamente 10 g/l en agua.

4.4 Metales pesados

Sobre la solución preparada para el ensayo (4.3) determinar el hierro según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido expresado en plomo debe ser inferior a 30 mg/kg.

4.5 Plomo

Sobre la solución preparada para el ensayo (4.3) determinar el plomo según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

4.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para el ensayo (4.3) pero sin evaporar la solución, determinar el mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 0,15 mg/kg.

4.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para el ensayo (4.3) determinar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.8 Cadmio

Sobre la solución preparada para el ensayo (4.3) determinar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 0,5 mg/kg.

4.9 Nitrógeno total

Introducir 5 g de manoproteínas en un matraz de mineralización de 300 ml con 15 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 2 g de catalizador de mineralización (R). Continuar la determinación como se indica en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

En el caso de solución de manoproteínas, pesar un peso correspondiente a 5 g de residuo seco, evaporar casi a sequedad y luego continuar como antes.

El contenido en nitrógeno debe estar comprendido entre 5 y 75 g/kg

4.10 Análisis microbiológicos

4.10.1 Flora mesófila aerobia total

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Deben encontrarse menos de 10 000 gérmenes totales aerobios mesófilos en 1 g.

4.10.2 Coliformes

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Debe haber menos de 10 UFC por gramo de preparación.

4.10.3 *Staphylococcus aureus*

Proceder al recuento según un método, descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada de *Staphylococcus aureus* en 1 g de muestra.

4.10.4 Salmonelas

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada de salmonelas en 25 g de muestra.

4.10.5 *Escherichia coli*

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada de *Escherichia coli* en 25 g de muestra.

4.10.6 Bacterias lácticas

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Menos de 10⁴ UFC/g de preparación.

4.10.7 Mohos

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL

Manoproteínas de levaduras

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Deben encontrarse menos de 50 UFC/g de preparación.

4.10.8 Levaduras

Proceder al recuento según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.

Deben encontrarse menos de 10^2 UFC/g de preparación.

4.11 Polisacáridos

4.11.1 Principio :

Medida de la intensidad de la coloración por el fenol en caliente, en medio sulfúrico.

4.11.2 Productos :

4.11.2.1 Solución de manoproteínas de 15 mg/l

Disolver 150 mg de manoproteínas en 100 ml de agua destilada, a continuación diluir esta solución al 1/100 con agua destilada.

4.11.2.2 Solución de fenol de 50 g/l

Disolver 5 g de fenol puro en 100 ml de agua destilada.

4.11.3 Protocolo :

A 200 μ l de solución para determinar (4.11.2.1), se añaden 200 μ l de fenol (4.11.2.2) y a continuación 1 ml de ácido sulfúrico puro (R). Después de agitación inmediata, los tubos se ponen en un baño de agua a 100°C durante 5 minutos y luego se enfrían a 0°C.

Una vez alcanzada la temperatura ambiente se mide la absorbancia a 490 nm. La solución de referencia es una solución de manosa de 100 mg/l.

(El contenido de polisacáridos expresado en equivalentes de manosa debe ser superior a 600 g/kg.)

4.12 Composición centesimal en monómeros glucídicos

4.12.1 Principio :

Determinación enzimática de la glucosa y de la manosa después de una hidrólisis ácida.

La determinación de la manosa se realiza a continuación de la determinación de la fructosa añadiendo la fosfomanosa isomerasa (PMI).

4.12.2 Productos :

4.12.2.1 Solución de manoproteínas de 5 g/l

Disolver 500 mg de manoproteínas en 100 ml de agua destilada.

4.12.2.2 Solución de ácido sulfúrico 5 M

Poner 28 ml de ácido sulfúrico puro en 100 ml de agua destilada.

4.12.2.3 Solución de hidróxido de potasio 10 M
Disolver 46 g de hidróxido de potasio en 100 ml de agua destilada.

4.12.2.4 Fosfomanosa isomerasa 616 U/ml.

4.12.3 Protocolo :

Poner 100 µl de la solución a determinar (4.12.2.1) en tubos que pueden cerrarse herméticamente y añadir 1 ml de ácido sulfúrico (4.12.2.2). Después de agitación, los tubos se colocan en un baño de agua a 100 °C durante 30 minutos y después se enfrían 0 °C. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se añade 1 ml de hidróxido de potasio para neutralizar el medio.

La dosificación de la glucosa y de la manosa puede entonces realizarse según el método descrito en el Compendio.

Las manoproteínas deben contener al menos 70% de manosa en relación a los polisacáridos totales determinados en 4.11.

4.13 Test de eficacia de las manoproteínas respecto a las precipitaciones tártricas

4.13.1 Principio :

Determinación del contenido en manoproteínas como retardador de la cristalización del hidrógenotartrato de potasio en una solución hidroalcohólica.

4.13.2 Productos :

Acido tártrico cristalizado: PM = 150,05

Etanol de 95% vol

Cloruro de potasio: PM= 74,5

Hidrógenotartrato de potasio: PM= 188

4.13.3 Protocolo :

4.13.3.1 Solución de manoproteínas de 10 g/l

Disolver 1 g de manoproteínas en 100 ml de agua destilada.

4.13.3.2 Matriz hidroalcohólica

En un matraz aforado de 1 litro lleno hasta la mitad con agua destilada disolver :

- Acido tártrico : 2,1 g
- Cloruro de potasio : 1,1g
- Etanol de 95 % volumen : 110 ml

Homogenizar y completar con agua destilada.

4.13.4 Test :

Colocar en 5 matraces aforados de 100 ml cantidades crecientes de la solución de manoproteínas (4.13.3.1) 0 – 1 – 2 – 3 - 4 ml completar a 100 ml con la matriz hidroalcohólica (4.13.3.2). Estas cantidades

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Manoproteínas de levaduras

corresponderán a cantidades finales de 0 – 100 – 200 – 300 - 400 mg/l de manoproteínas.

Añadir en cada matraz 100 mg de hidrógenotartrato de potasio.

Colocar en un baño de agua a 40°C durante 1 hora hasta la solubilización completa del hidrógenotartrato de potasio.

Guardar los matraces en refrigerador a 4°C.

Observación a las 48 horas:

El matraz testigo conteniendo 0 ml de la solución de manoproteínas (4.13.3.1) presenta cristales de hidrógenotartrato de potasio.

La ausencia de cristales en los matraces conteniendo manoproteínas permitirá apreciar su eficacia. En todo caso, los cristales deberán estar ausentes en la solución conteniendo 400 mg/l de manoproteínas.

4.14 Test de eficacia de las manoproteínas respecto a la desestabilización proteica

4.14.1 Principio

Determinación del contenido en manoproteínas para mejorar la estabilización proteica de los vinos.

4.14.2 Producto :

Suero albúmina bovina (Fracción V) (BSA)

4.14.3 Protocolo :

4.14.3.1 Solución de suero albúmina bovina de 10 g/l

Disolver 2 g de suero albúmina bovina en 200 ml de agua destilada.

4.14.3.2 Solución de manoproteínas de 20 g/l

Disolver 2 g de manoproteínas en 100 ml de agua destilada.

4.14.4 Test

Colocar 1 ml de la solución de BSA (4.14.3.1) en 2 matraces aforados de 100 ml. Completar a 100 ml cada matraz para un vino blanco seco que no presente turbidez al calor (o estabilizado si fuera necesario por tratamiento con bentonita a la dosis adecuada), homogeneizar.

Añadir 0 y 1ml de la solución de manoproteínas (4.14. 3.2) homogeneizar. Estas cantidades corresponderán a las dosis finales de 0 y 200 mg/l de manoproteínas.

Filtrar sobre membrana con un diámetro de poro de 0,45 µm las soluciones testigo y tratada. Colocar las soluciones filtradas en 2 matraces de 50 ml.

Colocar los 2 matraces de 50 ml en un baño de agua a 80°C durante 30 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente durante 45 minutos, medir la turbidez de las soluciones testigo y tratada.

La disminución de la turbidez entre la muestra testigo y la muestra tratada debe ser al menos de un 50%.

4.15 Determinación en los vinos

Principio

La determinación de las manoproteínas en los vinos puede realizarse después de la precipitación con etanol (5 volúmenes), hidrólisis ácida del precipitado y determinación de la manosa liberada según el método que figura en anexo.

5. CONSERVACION

Las manoproteínas sólidas tienen una duración de conservación superior a 2 años si son almacenadas al abrigo de la humedad, en un embalaje cerrado y en locales climatizados.

Las manoproteínas presentadas en soluciones coloidales preparadas para el empleo deben ser almacenadas en recipientes herméticamente cerrados.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Manoproteínas de levaduras

Anexo

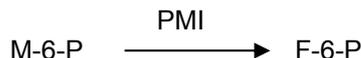
Determinación de la manosa por el método enzimático

Principio

La manosa es fosforilada como la glucosa y la fructosa :



Después de la determinación de la glucosa y de la fructosa, la manosa-6-fosfato se transforma bajo la acción de la fosfomanosa isomerasa (PMI) en fructosa-6-fosfato.



La fructosa-6-fosfato formada nuevamente se transforma como antes en glucosa-6-fosfato, que se determina.

Protocolo

Colocar 5 ml de vino en un tubo de centrifuga y añadir 25 ml de etanol de 95%, después de agitación, los tubos se colocan 12 horas en el refrigerador a 4°C. El precipitado formado se recupera por centrifugación, lavar 2 veces con 10 ml de etanol de 95%. La hidrólisis del precipitado y la determinación de la manosa se realizan como en 4.12.

Esta determinación no permitirá diferenciar las manoproteínas añadidas de las manoproteínas naturales.

Reactivo adicional en relación al método del Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos

Solución 6 : fosfomanosa isomerasa (616 U/ml).

La suspensión se utiliza sin dilución.

Determinación

Después de medir A_3 según el método del Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos, añadir:

	Testigo	Determinación
Solución 6	0,02 ml	0,02 ml

Mezclar ; efectuar la medida después de 30 min ; verificar el fin de la reacción después de 2 min. (A_4)

Determinar las diferencias de absorbancia:

$A_4 - A_3$ correspondiente a la manosa, tanto para el testigo como para la muestra.

Restar la absorbancia obtenida para el testigo ($\square A_T$) de la obtenida para la determinación ($\square A_D$) y establecer para la manosa: $\square A_M = \square A_D - \square A_T$

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Manoproteínas de levaduras

Expresión de los resultados

Se obtiene

Para la manosa: $Cg/l = 0,423x \square A_M$

Observación : Si las medidas fueron hechas a longitudes de onda de 334 o 365 nm , se obtiene :

Medida a 334 nm :

Para la manosa: $Cg/l = 0,430x \square A_M$

Medida a 365 nm

Para la manosa: $Cg/l = 0,783x \square A_M$

MATERIAS PROTEICAS DE ORIGEN VEGETAL
DERIVADAS DE TRIGO Y GUISANTES

1 OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Las materias proteicas de origen vegetal descritas en esta monografía se extraen de trigo (*Triticum* sp.) y de guisantes (*Pisum sativum*). Se componen principalmente de proteínas, pero pueden contener también naturalmente hidratos de carbono (fibras, almidón, azúcares), materias grasas y minerales. Se destinan a la alimentación humana. Las materias proteicas vegetales se utilizan para la clarificación de los mostos y de los vinos.

Las materias proteicas vegetales se presentan bajo forma de polvo blanquecino, marrón claro o amarillento, son solubles en el agua en totalidad o en parte en función del pH. Pueden también presentarse bajo forma líquida con un contenido superior o igual a 50 g/l. Las soluciones se estabilizan con dióxido de azufre.

2 ETIQUETADO

Las indicaciones siguientes deben figurar sobre la etiqueta del embalaje: origen vegetal de la proteína, contenido mínimo de proteína, condiciones de seguridad y de conservación, fecha límite de utilización .

Sin perjuicio de las disposiciones en vigor en los países en los cuales estos productos se comercializan para su utilización, el origen OGM de la materia prima debe indicarse en la etiqueta del embalaje.

3 ENSAYOS

3.1 Pérdida en la desecación

En una cápsula de sílice de 70 mm de diámetro con tapa, colocar 2 g de proteínas. Desecar en la estufa a 105° C durante 6 horas. Dejar enfriar en cápsula abierta y en desecador. Pesar.

La pérdida de peso no debe superar un 12 % en la preparación en polvo.

Todos los límites fijados anteriormente se refieren a peso seco.

3.2 Determinación del nitrógeno total

Sobre una alícuota de la muestra de 0,2 g proceder como se indica en anexo en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Materias proteicas de origen vegetal

El nitrógeno total debe ser superior al 10 p 100 del peso de polvo (correspondiente a alrededor de 65 % en proteína).

3.3 Cenizas

Incinerar el residuo obtenido en la determinación de la pérdida en la desecación (3.1) calentándolo progresivamente a 600°C en el horno de mufla hasta obtener un residuo blanco y después de haberlo espolvoreado con 0,2 a 0,3 g de parafina sin cenizas destinada a evitar proyecciones de la masa.

El contenido de cenizas totales debe ser inferior a 8%.

3.4 Preparación de la solución para el ensayo

Después de pesar, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y añadir agua destilada hasta obtener un volumen igual a 25 veces el peso de la proteína seca. 1 ml de esta solución contiene las materias minerales de 0,04 g de proteína seca.

3.5 Hierro

A 10 ml de solución para el ensayo preparada según 3.4 se añade 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), una gota de permanganato de potasio al 1 p 100 (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p 100 (R).

Si aparece una coloración roja, ella debe ser inferior a la de un testigo preparado con 6 ml de solución hierro (III) de 0,010 g por litro (R), 4 ml de agua y las mismas cantidades de ácido clorhídrico concentrado (R) y de tiocianato de potasio al 5 p 100 (R).

El contenido en hierro debe ser inferior a 150 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la determinación del hierro por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

3.6 Cromo

En un matraz Erlenmeyer de 50 ml, colocar 10 ml de solución para el ensayo preparada según 3.4, 1 ml de una solución de persulfato de amonio al 15 p 100 (R), 0,5 ml de una solución de nitrato de plata al 1 p 100 (R). Calentar y añadir gota a gota hasta coloración rosa persistente del permanganato de potasio en solución al 3 p 100 (R). Poner algunas gotas más y mantener una ebullición suave durante 10 minutos. Si durante la ebullición la solución se decolora, añadir

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL

Materias proteicas de origen vegetal

permanganato de potasio. Después de 10 minutos introducir gota a gota ácido clorhídrico diluido a 1/10 (R) hasta la decoloración completa.

Una vez enfriado, transvasar a un matraz aforado de 20 ml y añadir 2 ml de difenilcarbazida en solución recientemente preparada al 0,05 p 100 en el alcohol (R). Llevar a 20 ml.

Si aparece una coloración rojo violáceo, debe ser inferior a la obtenida al tratar 4 ml de solución de dicromato de potasio de 0,001 g de cromo por litro (R) con 2 ml de ácido sulfúrico al 5 p 100 (R), 5 ml de agua destilada, añadiendo, después de mezclar, 2 ml de solución de difenilcarbazida al 0,05 p 100 en alcohol (R) y llevando a 20 ml.

El contenido en cromo debe ser inferior a 10 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la determinación del cromo por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

3.7 Cobre

2,5 ml de la solución para el ensayo preparada según 3.4, se colocan en un tubo de ensayo con 7,5 ml de agua, 0,5 ml de solución cítrica clorhídrica (R), 1 ml de hidróxido de amonio 5 M (R), 0,5 ml de reactivo dietilditiocarbamato de sodio (R). Si aparece una coloración amarilla, no debe ser más intensa que la obtenida añadiendo a 4,7 ml de una solución de cobre de 1 mg por litro (R) llevados a 10 ml, las mismas cantidades de los mismos reactivos.

El contenido en cobre debe ser inferior a 35 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la determinación del cobre por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

3.8 Zinc

A 1,25 ml de la solución para el ensayo preparada según 3.4, se añaden 3,75 ml de agua destilada, 5 ml de solución tampón acetato (R), 1 ml de solución de tiosulfato de sodio al 25 p 100 (m/v) (R), 5 ml de solución de ditizona de 25 mg por litro en cloroformo o diclorometano (R). Agitar durante 2 minutos. Separar la fase orgánica; su coloración debe ser inferior a la obtenida tratando con las mismas cantidades de los mismos reactivos 2 ml de solución de zinc de 1 mg por litro (R).

El contenido en zinc debe ser inferior a 50 mg/kg.

Es igualmente posible proceder a la determinación del zinc por espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

3.9 Plomo

Sobre la solución para el ensayo preparada según 3.4, efectuar la determinación según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

3.10 Mercurio

Efectuar la determinación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg

3.11 Arsénico

Efectuar la determinación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg

3.12 Cadmio

Efectuar la determinación del cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg

4. CONTROL MICROBIOLÓGICO

4.1 Microorganismos viables totales

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Su contenido debe ser inferior a $5 \cdot 10^4$ UFC/g de preparación.

4.2 *Escherichia coli*

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 1 g.

4.3 Salmonelas

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 25 g.

4.4 Coliformes

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Menos de 10^2 UFC/g de preparación.

4.5 Levaduras

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Menos de 10^3 UFC/g de preparación.

4.6 Mohos

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Materias proteicas de origen vegetal

Proceder al recuento como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

Menos de 10^3 UFC/g de preparación.

5. DETERMINACIÓN DE MICOTOXINAS Y RESIDUOS DE PESTICIDAS

Según los métodos de análisis, determinar:

5.1 Aflatoxinas B₁

Proceder a los análisis según el método ISO 16050

Menos de 2 µg/kg.

5.2 Aflatoxina B₁, B₂, G₁, G₂

Proceder a los análisis según el método ISO 16050

Menos de 4 µg/kg en total.

5.3 Residuos de pesticidas organofosforados*

Menos de 10 mg/kg.

5.4 Residuos de pesticidas organoclorados*

Menos de 0,1 mg/kg.

5.5 Ocratoxina A

A partir de una solución acuosa de 5 g/l de proteína vegetal, efectuar la determinación por medio del método descrito en el Recueil de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos después de adaptación.

Menos de 5 µg/kg

6. CONSERVACION

Las materias proteicas vegetales deben conservarse en recipientes cerrados o en bolsa impermeable a la humedad en locales climatizados.

** Método a describir por la Subcomisión de los métodos de análisis*

MEMBRANAS DE ELECTRODIÁLISIS
(Oeno 29/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

La membrana de electrodiálisis es una pared delgada, densa e insoluble, constituida por un material polímero permeable a los iones que, colocada entre dos soluciones, permite una transferencia selectiva de iones de una solución hacia la otra, bajo la acción de un campo eléctrico.

La pareja de membranas empleadas, se componen de una membrana catiónica y de una membrana aniónica.

La membrana catiónica es un polímero que permite el paso preferente de los cationes, en particular de los cationes: K^+ , Ca^{++} .

La membrana aniónica es un polímero que permite el paso preferente de los aniones, en particular del anión tartrato.

Las membranas electrolíticas se emplean para la estabilización del vino, en relación a las precipitaciones tártricas.

2. COMPOSICIÓN

La membrana intercambiadora de cationes que se puede utilizar es un copolímero de estireno-divinilbenceno, que incorpora grupos funcionales sulfónicos.

La membrana intercambiadora de aniones que se puede utilizar es:

- O un copolímero estireno-divinilbenceno que incorpora grupos funcionales de amonio cuaternario.
- O bien un copolímero divinilbenceno amonio cuaternario.

Las membranas de electrodiálisis utilizadas para la estabilización tártrica del vino deben satisfacer las condiciones siguientes:

2.1 Deben estar fabricadas de acuerdo a las buenas prácticas de fabricación, a partir de las sustancias enumeradas.

2.1.1 En el anexo 1 que contempla los materiales en contacto con los productos alimenticios.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

- 2.1.2** En el anexo 2 y 3 que contemplan las resinas intercambiadoras de iones utilizadas en los tratamientos de los productos alimenticios.
- 2.2** Deben estar preparadas con vistas a su utilización, conforme a las instrucciones del fabricante y del suministrador.
- 2.3** No deben liberar ninguna sustancia en cantidad tal que conlleve un peligro para la salud humana, o que pueda perjudicar el gusto o el olor de los productos alimenticios.
- 2.4** A la hora de la su utilización, no deben existir interacciones entre los constituyentes de la membrana y los del vino, susceptibles de causar la formación de nuevos compuestos en el producto tratado, que puedan tener consecuencias toxicológicas.

La estabilidad de las membranas de electrodiálisis nuevas, será establecida por mediación de un simulador que recupere la composición físico-química del vino para el estudio de la migración eventual de determinadas sustancias procedentes de las membranas de electrodiálisis.

El método experimental propuesto es el siguiente:

Composición del simulador:

Se trata de una solución hidroalcohólica tamponada al pH del vino con una conductividad similar a la del vino. Su composición es la siguiente:

- Etanol absoluto 11 litros
- Hidrogenotartrato de potasio: 380 g
- Cloruro de potasio: 60 g
- Ácido sulfúrico concentrado: 5 ml
- Agua destilada: cantidad suficiente para 100 litros

Esta solución se utiliza para los ensayos de migración en circuito cerrado sobre un apilamiento de electrodiálisis bajo tensión (1 vol/célula) a razón de 50 litros/m² de membranas aniónicas y catiónicas, hasta desmineralizar la solución un 50%. El circuito efluente se iniciará por una solución de cloruro de potasio de 5 g/l.

Las sustancias migrantes se investigan en el simulador así como en el efluente de electrodiálisis.

Las moléculas orgánicas que intervienen en la composición de la membrana y que son susceptibles de emigrar a la solución tratada, se cuantificarán.

Una dosificación particular se realizará para cada uno de estos constituyentes por un laboratorio autorizado. El contenido en el simulador, debe ser inferior a 50 µg/l en total para el conjunto de los compuestos cuantificados.

De manera general, las reglas de control de los materiales en contacto con los alimentos, deben aplicarse al caso de estas membranas.

3. LÍMITES DE UTILIZACIÓN

La pareja de membranas aplicables al tratamiento de la estabilización tártrica del vino por electrodiálisis estará diseñada de manera que:

- La disminución del pH del vino no sea superior a 0,3 unidades de pH.
- La disminución de la acidez volátil sea inferior a 0,12 g/l (2 meq., expresados en ácido acético).

- El tratamiento por electrodiálisis no afectará a los constituyentes no iónicos del vino, en particular los polifenoles y los polisacáridos
- La difusión de pequeñas moléculas tales como el etanol será reducida y no implicará una disminución del grado alcohólico del vino superior a 0,1 % vol.

4. CONDICIONES DE UTILIZACIÓN

La conservación y la limpieza de las membranas deberá realizarse de acuerdo con las técnicas admitidas, con sustancias cuya utilización esté autorizada en la preparación de productos alimenticios.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

Anexo 1

Lista de los monómeros y otras sustancias de base que pueden ser utilizadas para la fabricación de materiales y objetos en materia plástica destinados a ser puestos en contacto con los productos y bebidas alimentarias.

**LISTA DE LOS MONOMEROS Y OTRAS SUSTANCIAS DE BASE
AUTORIZADAS**

PM/REF No.	Caso No.	Denominación	Restricciones
(1)	(2)	(3)	(4)
10030	000514-10-3	Acido abiético	
10060	000075-07-0	Acetaldeída	
10090	000064-19-7	Acido acético	
10120	000108-05-4	Acetato de vinilo	SML = 12 mg/kg
10150	000108-24-7	Anhídrido acético	
10210	000074-86-2	Acetileno	
10630	000079-06-1	Acrilamida	SML = ND (DL = 0.01 mg/kg)
10660	015214-89-8	Acido 2-acrilamido-2-metilpropano -sulfónico	SML = 0/05 mg/kg
10690	000079-10-7	Acido acrílico	
10750	002495-35-4	Acrilato de bencilo	
10780	000141-32-2	Acrilato de n-butilo	
10810	002998-08-5	Acrilato de sec-butilo	
10840	001663-39-4	Acrilato de tert-butilo	
11470	000140-88-5	Acrilato de etilo	
	000818-61-1	Acrilato de hidroxietilo	Ver « Monoacrilato de etilenoglicol»
11590	00106-63-8	Acrilato de isobutilo	
11680	00689-12-3	Acrilato de isopropilo	
11710	000096-33-3	Acrilato de metilo	
11830	000818-61-1	Acrilato de etilenoglicol	
11890	002499-59-4	Acrilato de n-octilo	
11980	000925-60-0	Acrilato de propilo	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
12100	000107-13-1	Acilonitrilo	LMS = No detectable (LD = 0,020 mg/kg, incluyendo tolerancia analítica)
12310		Albúmina	
12340		Albúmina coagulada por la formaldeida	
12375		Monoalcoholes alifáticos saturados, lineares, primarios (C4-C22)	
12670	002855-13-2	1-amino-3-aminometil-3,5,5-trimetilciclohexano	LMS = 6 mg/kg
12788	002432-99-7	Acido 11 aminundecanoico	LMS= 5 mg/kg
12789	007664-41-7	Amoniaco	
12820	00123-99-9	Acido azelaico	
12970	004196-95-6	Anhídrido azelaico	
13000	001477-55-0	1,3-benzenodimetanamina	LMS = 0.05 mg/kg
13090	000065-85-0	Acido benzoico	
13150	000100-51-6	Acido bencílico	
	000111-46-6	Bis(2-hidroxietil)éter	Ver "Dietilenoglicol"
	000077-99-6	2,2-bis(hidroximetil)-1-butanol	Ver 1,1,1-trimetilpropano
13390	000105-08-8	1,4-bis(hidroximetil) ciclohexano)	
13480	000080-05-7	2,2-bis(4-hidroxifenil) propano	LMS = 3 mg/kg
13510	001675-54-3	Eter bis(2,3-epoxipropílico) de 2,2-bis(hidroxifenil) propano	CM= 1 mg/kg PF o SML = no-detectable (LD = 0.020mg/kg,incluyend o tolerancia analítica)
	000110-98-5	Eter bis(hidroxipropílico)	Ver "Dipropilenoglicol"
	005124-30-1	Bis (4-isociananatociclohexil) metano	Ver "4,4-Diisocianato de diciclohexilmetano".
13530	038103-06-9	Bis(anhídrido ftálico) de 2,2 bis(4-hidroxifenil) propano	LMS = 0.05 mg/kg
13600	047465-97-4	3,3-bis(3-metil-4-hidroxifenil)-2-indolinona	LMS = 1.8 mg/kg
	000080-05-7	Bisfenol A	Ver "2,2-bis(4-hidroxifenil) propano"
	001675-54-3	Eter bis(2,3-epoipropílico)de bisfenol A	Ver Eter bis(2,3-epoxipropílico) de 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano
13614	038103-06-9	Bis (anhídrido ftálico)de bisfenol	Ver 13530

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
13630	000106-99-0	Butadieno	CM= 1 mg/kg de PF o LMS = no-detectable (DL = 0.02 mg/kg,incluyendo tolerancia analítica)
3690	000107-88-0	1,3-butanodiol	
13840	000071-36-3	1-butanol	
13870	000106-98-9	1-buteno	
13900	000107-01-7	2-buteno	
14110	000123-72-8	Butiraldeída	
14140	000107-92-6	Acido butírico	
14170	000106-31-0	Anhídrico butírico	
14200	000105-60-2	Caprolactama	LMS (T) = 15 mg/kg
14230	002123-24-2	Caprolactama, sal de sodio	LMS (T) = 15 mg/kg (expresado en caprolactama)
14320	0001207-2	Acido caprílico	
14350	00630-08-0	Monóxido de carbono	
14380	000075-44-5	Cloruro de carbonilo	CM = 1 mg/kg en FP
14411	008001-79-4	Aceite de ricino	
14500	009004-34-6	Celulosa	
14530	007782-50-5	Clorina	
	000106-89-8	1-cloro-2,3-epoxi propano	Ver "Epiclorhidrina"
14680	000077-92-9	Acido cítrico	
14710	000108-39-4	<i>m</i> -cresol	
14740	000095-48-7	<i>o</i> -cresol	
14770	00106-44-5	<i>p</i> -cresol	
	00105-08-8	1,4-ciclohexanodimetanol	Ver 1,4-bis(hidroximetil) ciclohexano
14950	003173-53-3	Isocianato de ciclohexilo	CM (T) = 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)
15070	001647-16-1	1,9-decadieno	LMS = 0.05 mg/kg
15095	000334-48-5	Acido decanoico	
15100	000112-30-1	1-decanol	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
	000107-15-3	1,2-diaminoetano	Ver "Etilenodiamina"
	000124-09-4	1,6-diaminohexano	Ver "Hexametilenodiamina"
15250	000110-61-1	1,4-diaminobutano	
15565	0000106-46-7	1,4-diclorobenceno	LMS == 12 mg/kg
15700	005124-30-1	4,4' diisocianato de dicitlohexilmetano	CM (T) - 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)
15760	000111-46-6	Dietilenoglicol	LMS (T) = 30 mg/kl solo o con etilenoglicol
15790	000111-46-6	Dietilenotriamina	LMS = 5 mg/kg
15820	000345-92-6	4,4'-difluorobenzofenona	LMS = 0.05 mg/kg
15880	000120-80-9	1,2-dihidroxibenceno	LMS = 6 mg/kg
15910	000108-46-3	1,3- dihidroxibenceno	LMS = 2.4 mg/kg
15940	000123-31-9	1,4- dihidroxibenceno	LMS = 0.6 mg/kg
15970	000611-99-4	4,4'- dihidroxibenzofenona	LMS = 6 mg/kg
16000	000092-88-6	4,4'-ddihidroxiidifenil	LMS = 6 mg/kg
16150	000108-01-0	Dimetilaminoetanol	LMS = 18 mg/kg
16240	000091-97-4	4,4'-diisocianato de 3,3'- dimetilbifenilo	CM (T) = 1 mg/kg in FP (expressed as NCO)
16480	000126-58-9	Dipentaeritritol	
16570	004128-73-8	4,4'-diisocianato de éter difenílico	CM(T) = 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)
16600	005873-54-1	2,4'-diisocianato de difenilmetano	CM(T) = 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)
16630	000101-68-8	4,4'- diisocianato de difenilmetano	CM(T) = 1 mg/kg in FP (expressed as NCO)
16660	000110-98-5	Dipropilenoglicol	
16750	000106-89-8	Epiclorhidrina	CM = 1 mg/kg in FP
16780	000064-17-5	Etanol	
16950	000074-85-1	Etileno	
16960	000107-15-3	Etilenodiamina	LMS = 12 mg/kg
16990	000107-21-1	Etilenoglicol	LMS (T) = 30 mg/kg solo o con dietileno glicol

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
17005	000151-56-4	Etileneimina	LMS = ND (DL = 01 mg/kg)
17020	000075-21-8	Oxido de etileno	CM = 1 mg/kg en FP
17050	000104-76-7	2-etil-1-hexanol	LMS = 30 mg/kg
17160	000097-53-0	Eugenol	LMS = 0.1 mg/kg
17170	061788-47-4	Acidos grasos de coco	
17200	068308-53-2	Acidos grasos de aceite de soja	
17230	061790-12-3	Acidos grasos de tallol	
17260	000050-00-0	Formaldeída	LMS = 15 mg/kg
17290	000110-17-8	Acido fumárico	
17530	000050-99-7	Glucosa	
18010	000110-94-1	Acido glutárico	
18070	000108-55-4	Anhídrido glutárico	
18100	000056-81-5	Glicerol	
18250	000115-28-6	Acido hexacloroendometilenet etra-hidroftálico	LMS = ND (DL = 0.01 mg/kg)
18280	00115-27-5	Anhídrido hexacloroendometilenet etra-hidroftálico	LMS = ND (DL = 0.01 mg/kg)
18310	036653-82-4	1-hexadecanol	
18430	00116-15-4	Hexafluoropropileno	LMS = ND (DL = 0.01 mg/kg)
18460	000124-09-4	Hexametilenediamina	LMS = 2.4 mg/kg
18640	000822-06-0	Diisocianato de hexametileno	CM(T) = 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)
18670	000100-97-0	Hexametileno tetramina	LMS (T) = 15 mg/kg (expresado en formaldeída)
	00123-31-9	Hidroquinona	Ver 1,4-dihidroxibenzeno
18880	000099-96-7	Acido p-hydroxibenzoico	
19000	000115-11-7	Isobuteno	
19210	001459-93-4	Isoftalato de dimetilo	LMS = 0.05 mg/kg
19270	000097-65-4	Acido itacónico	
19460	000050-21-5	Acido láctico	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
19470	000143-07-7	Acido láurico	
19480	002146-71-6	Laureato de vinilo	
19510	011132-73-3	Lignocelulosa	
19540	000110-16-7	Acido maleico	LMS (T) 30 mg/kg
19960	00108-31-6	Anhídrido maleico	LMS (T) = 30 mg/kg (expresado en ácido maleico)
	000108-78-1	Melamina	Ver 2,4,6-triamino-1,3,5-triazina
20020	000079-41-4	Acido metacrílico	
20080	002495-37-6	Metacrilato de benzilo	
20110	000097-88-1	Metacrilato de butilo	
20140	002998-18-7	Metacrilato de sec-butilo	
20170	000585-07-9	Metacrilato de tert-butilo	
20890	000097-63-2	Metacrilato de etilo	
21010	000097-86-9	Metacrilato de isobutilo	
21100	004655-34-9	Metacrilato de isopropilo	
21130	000080-62-6	Metacrilato de metilo	
21190	000868-77-9	Monometacrilato de etilenoglicol	
21280	002177-70-0	Metacrilato de fenilo	
21340	002210-28-8	Metacrilato de propilo	
21460	000760-93-0	Anhídrido metacrílico	
21490	000126-98-7	Metacrilonitrilo	LMS= no detectable (DL = 0.020 mg/kg, incluyendo tolerancia analítica)
21550	000067-56-1	Metanol	
21940	000924-42-5	N-metilolacrilamida	LMS = ND (DL = 0.0 mg/kg)
22150	000691-37-2	4-metil-1-penteno	LMS = 0.02 mg/kg
22350	000544-63-8	Acido mirístico	
22390	000840-65-3	2,6-Naftalenodicarboxilato de dimetilo	LMS = 0.05 mg/kg
22420	003173-72-6	1,5-Diisocianato de naftaleno	CM(T) 1 mg/kg in FP (expresado en NCO)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
22450	009004-70-0	Nitrocelulosa	
22480	000143-08-8	1-nonanol	
22570	000112-96-9	Isocianato de octadecilo	CM(T) = 1 mg/kg en FP (expresado en NCO)
22600	000111-87-5	1-octanol	
22660	000111-66-0	1-octeno	LMS= 15 mg/kg
22763	000112-80-1	Acido oleico	
22780	000057-10-3	Acido palmítico	
22840	000115-77-5	Pentaeritritol	
22870	000071-41-0	1-pentanol	
22960	000108-95-2	Fenol	
23050	000108-45-2	1,3-fenilenediamina	CM= 1 mg/kg en FP
	000075-44-5	Fosgeno	Ver "Cloruro de carbonilo"
23170	007664-38-2	Acido fosfórico	
		Acido ftálico	Ver "Acido tereftálico"
23200	000088-99-3	Acido o-ftálico	
23230	000131-17-9	Ftalato de dialilo	LMS = ND (DL = 0.01 mg/kg)
23380	000085-44-9	Anhídrido ftálico	
23470	000080-56-8	alfa-pineno	
23500	000127-91-3	beta-pineno	
23590	025322-68-3	Polietilenoglicol	
23651	025322-69-4	Polipropilenoglicol	
23740	000057-55-6	1,2-propanediol	
23800	000071-23-8	1-propanol	
23830	000067-63-0	2-propanol	
23860	000123-38-6	Propionaldeida	
23890	000079-09-4	Acido propiónico	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
23950	000123-62-6	Anhídrido propiónico	
23980	000115-07-1	Propileno	
24010	000075-56-9	Oxido de propileno	CM = 1 mg/kg en FP
	000120-80-9	Pirocatecol	Ver 1,2-dihidroxibenzeno
24057	000089-32-7	Anhídrido piromelítico	LMS = 0.05 mg/kg (expresado en ácido piromelítico)
24070	073138-82-6	Acidos resínicos	
	000108-46-3	Resorcinol	Ver 1,2-dihidroxibenzeno
24100	008050-09-7	Colofonia	
24130	008050-09-7	Goma de colofonia	Ver "Colofonia"
24160	008052-10-6	Resina de tallol	
24190	009014-63-5	Rdsina de madera	
24250	009006-04-6	Caucho natural	
24270	000069-72-7	Acido salicílico	
24280	000111-20-6	Acido sebácico	
24430	002561-88-8	Anhídrido cebácico	
24475	001313-82-2	Sulfuro de sodio	
24490	000050-70-4	Sorbitol	
24520	008001-22-7	Aceite de soja	
24540	009005-25-8	Almidón alimentario	
24550	000057-11-4	Acido esteárico	
24610	000100-42-5	Estireno	
24820	000110-15-6	Acido succínico	
24850	000108-30-5	Anhídrido succínico	
24880	000057-50-1	Sacarosa	
24887	006362-79-4	Acido 5-sulfoisoftálico, sal monosódica	LMS = 5 mg/kg

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

PM/REF N°	Caso N°	Denominación	Restricciones
24888	003965-55-7	5-sulfoisofталato de dimetilo, sal monosódica	LMS = 0.05 mg/kg
24910	000100-21-0		LMS = 7.5 mg/kg
24940	000100-20-9	Dicloruro del ácido tereftálico	LMS (T) = 7.5 mg/kg (expresado en ácido tereftálico)
24970	000120-61-6	Tereftalato de dimetilo	
25090	000112-60-7	Tetraetilenoglicol	
25120	000116-14-3	Tetrafluoroetileno	LMS = 0.05 mg/kg
25150	000109-99-9	Tetrahidrofurano	LMS = 0.6 mg/kg
25180	000102-60-3	N,N,N',N'-tetrakis(2-hidroxipropil)-etilenodiamina	
25210	000584-84-9	2,4-diisocianato de tolueno	CM(T) = 1 mg/kg en FP (expresado en nCO)
25240	000091-08-7	2,6- diisocianato de tolueno	CM(T) = 1 mg/kg en FP (expresado en nCO)
25270	026747-90-0	2,4- diisocianato de tolueno, dímero	CM(T) = 1 mg/kg en FP (expresado en nCO)
25360		Trialkil(C ₅ -C ₁₅) acetato de 2,3-epoxipropilo	LMS = 6 mg/kg
25420	000108-78-1	2,4,6-triamino-1,3,5-triazina	LMS = 30 mg/kg
25510	000112-27-6	Trietileno glicol	
25600	000077-99-6	1,1,1-trimetilolpropano	LMS = 6 mg/kg
25910	024800-44-0	Tripropilenoglicol	
25960	000057-13-6	Urea	
26050	000075-01-4	Cloruro de vinilo	Ver la directiva 78/142/CEE del Consejo
26110	000075-35-4	Cloruro de vinilideno	CM = 5 mg/kg en FP o SML = ND (DL = 0.05 mg/kg)
26140	000075-38-7	Fluoruro de vinilideno	LMS = 5 mg/kg

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

Un cierto número de abreviaciones figuran en la columna 4 de la tabla. Su significado es el siguiente:

- LD = Límite de detección del método de análisis.
- PF = Producto o material final
- NCO = Grupo isocianato
- ND = No detectable.
*A los efectos de la presente directiva, "no detectable" significa que la sustancia no debería ser detectada por un método de análisis validado que podría detectar en el límite de detección especificado. Si un tal método no existiera actualmente, un método de análisis con características de rendimiento apropiadas al límite especificado puede ser utilizado en espera del desarrollo de un método validado.
- CM = Cantidad máxima permitida de sustancia "residual" en el material u objeto.
- CM(T) = Cantidad máxima permitida de sustancia "residual" en el material u objeto, expresada como el total del grupo de la(s) sustancia(s) indicada(s).
*A los efectos de esta directiva, « CM(T) » significa que la cantidad máxima permitida de la sustancia "residual" en el material o artículo debe ser determinada usando un método analítico aprobado para el límite especificado. Si un tal método no existiera actualmente, un método de análisis con características de rendimiento apropiadas al límite especificado puede ser utilizado en espera del desarrollo de un método validado.
- LMS = Límite de migración específica en el producto alimentario o en el estimulante alimentario, a menos que la misma sea precisada en forma diferente.
*A los efectos de esta directiva, « LMS » significa que la migración específica de la sustancia debe ser determinada usando un método analítico aprobado para el límite especificado. Si un tal método no existiera actualmente, un método de análisis con características de rendimiento apropiadas al límite especificado puede ser utilizado en espera del desarrollo de un método validado.

LMS(T) = Límite de migración específica en el producto alimentario o en el estimulante alimentario, expresada como el total del grupo de la(s) sustancia(s) indicada(s).

*A los efectos de esta directiva, « LMS(T) » significa que la migración específica de la sustancia debe ser determinada usando un método analítico aprobado para el límite especificado. Si un tal método no existiera actualmente, un método de análisis con características de rendimiento apropiadas al límite especificado puede ser utilizado en espera del desarrollo de un método validado.

© CECA-CE-CEEA, Bruselas, 1998

Producido en Bruselas por CE SG el 1/19/1998

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

Anexo 2

Lista de inventario de las sustancias utilizadas en la fabricación de resinas intercambiadoras de iones y adsorbentes utilizados en el acondicionamiento de los productos alimentarios. (Resolución AP (97)1 EC)

Lista 1

Substancias evaluadas por un organismo internacional

DENOMINACION	PM/REF CASO		RESTRICCIONES
Monómeros y otras sustancias de base			
Acrilato de n-butilo	10780	00141-32-2	-
Acrilato de etilo	11470	00140-88-5	-
Acrilato de metilo	11710	00096-33-3	-
Acrilonitrilo	12100	00107-13-1	LMS = ND (LD = 0.02 mg/kg)
Formaldeída	17260	00050-00-0	LMS = 15 mg/kg
Metacrilato de metilo	21130	00080-62-6	-
Metanol	21550	00067-56-1	-
Estireno	24610	00100-42-5	-
Modificadores químicos			
Acido carbónico, sales	42500	-	-
Acido clorhídrico	59990	07647-01-0	-
Acido fosfórico	72640	07664-38-2	-
Acido silícico, sales	85980	-	-
Acido sulfúrico	91920	07664-93-9	-
Anhídrido acético	10150	00108-24-7	-
tert-Butilo-4-hidroxianisol (BHA)	40720	25013-16-5	LMS = 30 mg/kg
Dietilenetriamina	15790	00111-40-0	LMS = 5 mg/kg
Dimetilamina	49225	00124-40-3	LMS = 0.06 mg/kg
2-(Dimetilamino)etanol	49235	00108-01-0	LMS = 18 mg/kg
Formaldeída	54880	00050-00-0	LMS = 15 mg/kg
Hexametilenediamina	18460	00124-09-4	LMS = 2.4 mg/kg
Hidróxido de potasio	81600	01310-58-3	-
Hidróxido de sodio	86720	01310-73-2	-
Nitrito de sodio	86920	07632-00-0	LMS = 0.6 mg/kg
Oxido de etileno	17020	00075-21-8	CM=1 mg/kg in FP
2-propanol	81882	00067-63-0	-
Aditivos de polimerización			
Acidos alquisulfónicos (C ₈ -C ₂₂)	34230	-	LMS = 6 mg/kg
Acidos alquisulfónicos (C ₈ -C ₂₂) lineares, primarios, con un número par de átomos de carbono	34281	-	-
Acido fórmico	55040	00064-18-6	-
Carboximetilcelulosa	42640	09000-11-7	-
Cloruro de estaño (IV)	93420	07646-78-8	-
Cloruro de metileno	66620	00075-09-2	LMS = 0.05 mg/kg
1,4-dihidroxibenzeno	48620	00123-31-9	LMS = 0.6 mg/kg
Gelatina	55440	09000-70-8	-
Hidróxido de amonio	35600	01336-21-6	-
Hidróxido de magnesio	64640	01309-42-8	-
Hidroxietilcelulosa	60560	09004-62-0	-
Hidroxetilmetilcelulosa	60880	09032-42-4	-
Metanol	65960	00067-56-1	-
Metilcarboximetilcelulosa	66200	37206-01-2	-
Metilisobutilcetona	66725	00108-10-1	LMS = 5 mg/kg
Tolueno	93540	00108-88-3	LMS = 1.2 mg/kg

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

Anexo 3

Substancias provisoriamente utilizables en la fabricación de resinas intercambiadoras de iones.

Lista 2

1. Substancias no evaluadas completamente por un organismo internacional

DENOMINACION	PM/REF	CASE	RESTRICCIONES
Monómeros y otras sustancias de base			
Dimetacrilato de etilenoglicol	20440	00097-90-5	-
Divinilbenzeno	16690	01321-74-0	-
Eter dialílico de 1,1,1-trimetilolpropano-	25645	00682-09-7	-
Metacrilato de 2,3-epoxipropilo	20590	00106-91-2	-
2-metil-1,3-butadieno	21640	00078-79-5	-
1,7-octadieno	22585	03710-30-3	-
Trimetacrilato de 1,1,1 -trimetilopropano	25840	03290-92-4	-
Modificadores químicos			
N,N-dimetil-1,3-diaminopropano	49380	00109-55-7	-
Trietilamina	95270	00121-44-8	-
Trietilenotetramina	25520	00112-24-3	-
Aditivos de polimerización			
Alcoholes polivinílicos	81280	09002-89-5	-
4-tert-Butilcatecol	40640	00098-29-3	-
Diisobutilcetona	49050	00108-83-8	-
Hipoclorito de sodio	62110	07681-52-9	-
Isobutanol	62270	00078-83-1	-
4-Metoxifenol	66030	00150-76-5	-
Metileno bis(naftalenosulfonato de sodio)	66600	26545-58-4	-
2-metil-2-pentanol	66860	00108-11-2	-
Peróxido de dibenzoilo	46440	00094-36-0	-
Poliacetato de vinilo parcialmente hidrolizado	81260	-	-

2. Substancias no evaluadas por una organización internacional

DENOMINACION	PM/REF	CASO	RESTRICCIONES
Monómeros y otras sustancias de base			
Dimetoximetano	-	00109-87-5	-
Eter divinílico de dietilenoglicol	-	00764-99-8	-
Etilvinilbenzeno	-	28106-30-1	-
1,2,4-Trivinilciclohexano	-	02855-27-8	-
Modificadores químicos			
Acido clorosulfónico	-	07790-94-5	-
Acido monocloraacético	-	00079-11-8	-
Acido fosforoso	-	13598-36-2	-
Bromo	-	07726-95-6	-
2-Cloroetanol	-	00107-07-3	-
Cloruro de metilo	-	00074-87-3	-
1,2-Dicloroetano	-	00107-07-3	-
1,2-Dicloropropano	-	00078-87-5	-
3-(Dimetilamino)propanol	-	03179-63-3	-

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de electrodiálisis

DENOMINACION	PM/REF	CASO	RESTRICCIONES
Eter clorometil-metílico	-	00107-30-2	-
Nitrobenzeno	-	00098-95-3	-
Nitrito de potasio	-	07758-09-0	-
Ftalimida	-	0085-41-6	-
Trióxido de azufre	-	07446-11-9	-
Trimetilamina	-	00075-50-3	-
Adyuvantes de polimerización			
Acido lignosulfónico	63940	08062-15-5	-
Acido peracético	-	00079-21-0	-
Acido poliacrílico	76460	09003-01-4	-
Acido poli(estirenosulfónico), sal de sodio-	-	09080-79-9	-
Acrilamida – ácido acrílico, copolímero	-	09003-06-9	-
tert-Alkilaminas(C ₁₂ -C ₁₄) etoxiladas, propoxiladas	-	68603-58-7	-
Anhídrido maleico-estireno, copolímero sal de amonio	-	26022-09-3	-
Atapulguita	-	12174-11-7	-
Azobisisobutironitrilo	-	00078-67-1	-
1,1-bis(tert-butilperoxi)-3,3,5- trimetilclorohexano	-	06731-36-8	-
n-Dodecil mercaptano	-	00112-55-0	-
tert-Dodecil mercaptano	-	25103-58-6	-
Eter monobutílico de poli(etileno/propileno)- glicol	-	09038-95-3	-
Eter octilfenílico de polietilenoglicol	78560	09002-93-1	-
Eter de poli(etileno/propileno)glicol con el 1,1,1-trimetilolpropano	-	52624-57-4	-
tert-Hexadecil mercaptano	-	25360-09-2	-
Hidroperóxido de cumilo	-	00080-15-9	-
Isododecan	62405	31807-55-3	-
Isooctano	-	26635-64-3	-
Mono- y dialkil (C ₁₀ -C ₁₈) sulfonamidas	-	-	-
Nitrato de plata	-	07761-88-8	-
n-Octano	-	00111-65-9	-
Peracetato de tert-Butilo	-	00107-71-1	-
Perbenzoato de tert Butilo	-	00614-45-9	-
Percarbonato de bis (4-tert- butilciclohexita)	-	15520-11-3	-
Per(2-etilhexanoato)de tert-butilo	-	03006-82-6	-
Peroctanoato de tert-butilo	-	13467-82-8	-
Peróxido de dilauróilo	-	00105-74-8	-
Poli(cloruro de dialildimetilamonio)	-	26062-79-3	-
Polivinilpirrolidona	81500	09003-39-8	-

MEMBRANAS DE OSMOSIS INVERSA
(Oeno 30/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN.

Membrana perteneciente a la familia de las membranas semipermeables "composites" de capa fina (llamada TFC, Thin Film Composite).

La ósmosis inversa es un tratamiento de enriquecimiento de muestras, por medio de un procedimiento de membrana, para eliminar el agua pura y, de esta forma, aumentar el contenido en azúcares y otros constituyentes en solución de los mostos de uva.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO.

Es un método físico de eliminación de una parte de agua de un mosto con ayuda de una membrana semipermeable bajo la acción de un gradiente de presión, a temperatura ambiente y sin cambio ni alteración de su estado.

El equipo está constituido esencialmente de una bomba llamada "de gavaje" alimentando una bomba de alta presión (p. ej., 100 bares) que permiten vencer la presión osmótica, de un bloque de membranas y de aparatos de control, caudalímetro, indicador y regulador de presión, etc.

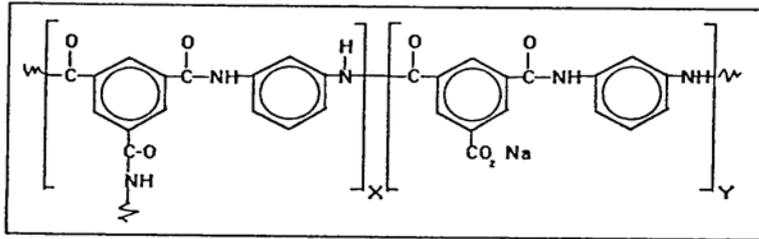
3. COMPOSICIÓN.

Todos los materiales empleados en el procedimiento son conformes con la reglamentación relativa a los materiales en contacto con los alimentos (tuberías, bombas, material de control, juntas, etc.) y en particular la membrana de osmosis inversa.

Las sustancias que forman parte de la composición de la membrana respetan las reglamentaciones en vigor.

Estas membranas son preparadas por polimeración *in situ* de un polímero sobre la superficie de un substrato poroso. El substrato es generalmente un ultrafiltro de tipo polisulfona. La capa fina sirve de membrana discriminante, en tanto que el substrato poroso sirve de soporte físico.

A título de ejemplo, la fórmula estructural de base de poliamida es la siguiente.



4. PUESTA EN SERVICIO.

Una vez fabricada, la membrana atraviesa numerosos baños de extracción conteniendo agua a alta temperatura para eliminar cualquier traza de solventes y de monómeros residuales.

En particular, no puede ceder, en condiciones normales o imprevistas constituyentes susceptibles de presentar un riesgo para la salud humana (principalmente en lo concerniente al compuesto más fácilmente medible, el cloruro de sodio, debe asegurar una tasa de retención superior al 99%). La membrana no debe entrañar una modificación inaceptable de la composición de mosto de uva (o de una solución conteniendo 170 g/l de azúcar, 5 g/l de ácido tartárico neutralizado a pH 3,5 con hidróxido de potasio) ni entrañar una alteración de los caracteres organolépticos.

5. REGENERACIÓN DE LAS MEMBRANAS.

El usuario puede utilizar como agente regenerante, productos inorgánicos autorizados por la reglamentación, a condición de terminar la operación con un lavado con agua que permita una eliminación completa del regenerante antes de la introducción del mosto

6. LÍMITES.

- Todos los materiales en contacto debe respetar las normas en vigor.
- No debe ser perceptibles ninguna alteración de los caracteres organolépticos del mosto.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Membranas de osmosis inversa

Toda liberación eventual de productos o derivados constituyentes de la membrana debe ser inferior a 50 µg/l en total, valor recomendado, y respetar los límites reglamentarios de migración específica de los diferentes componentes de los materiales.

7. CONDICIONES PARTICULARES.

La membrana debe ser suministrada exclusivamente por un suministrador o distribuidor autorizado.

- Debe ser puesto en servicio de un control y una limitación de utilización de la membrana por:
- Presencia de un contador horario y de un contador volumétrico precintado al nivel de las salidas del permeato.

Imposibilidad física inherente al proceso de aumentar la concentración del mosto por encima del límite fijado.

METATARTÁRICO (ÁCIDO)
Ácido ditartárico
Acidum ditartaricum
N° SIN: 353
(Oeno 31/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Llamamos comúnmente ácido metatartárico al producto obtenido por deshidratación del ácido L-tartárico por calor entre 150 y 170°C a presión atmosférica o a presión reducida.

Su utilización permite retardar las precipitaciones tartáricas de los vinos en botella.

La eficacia en la prevención de las precipitaciones tartáricas es directamente proporcional al porcentaje de esterificación y la dosis de empleo en los vinos está limitada por la legislación.

Los principales constituyentes de este producto son el monoéster y el diéster ditartárico en proporciones variables, procedentes de la combinación de dos moléculas de ácido tartárico con pérdida de agua, mezclados con cantidades variables de ácido tartárico no esterificado, ácido pirúvico y de pequeñas cantidades de ácidos poliésteres "mal conocidos".

Este producto se presenta en masas cristalinas o en estado de polvo, blanco más o menos coloreado de amarillo, con una débil olor a pan tostado o caramelo; es muy delicuescente.

Muy soluble en agua y alcohol, se hidroliza rápidamente en solución acuosa a 100°C y no tan rápido en frío.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe indicar el porcentaje de esterificación, y las condiciones de seguridad y de conservación, así como la fecha de caducidad.

3. CARACTERIZACIÓN

3.1. 1-10 mg de ácido metatartárico es introducida en un tubo de ensayo con 2 ml de ácido sulfúrico conc. (R) y 2 gotas de reactivo sulforesorcínico (R). Por calentamiento a 150°C, ha de aparecer una intensa coloración violeta.

3.2. En un vaso de precipitados de 100 ml, introducir 2,5 ml de una solución ácido tartárico al 10% (m/v) en alcohol al 20% vol. Añadir 10 mg de ácido metatartárico (0,5 ml de la solución al 2%), 40 ml de

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Metatartárico (ácido)

agua y 1 ml de una solución de acetato de calcio al 25% (m/v) (R). Agitar. No debe formarse ningún precipitado cristalino en 24 h a diferencia del vaso sin ácido metatartárico que al cabo de unos minutos presenta un precipitado. A veces si el índice de esterificación es elevado y contiene una pequeña cantidad de ésteres "mal conocido" aparecerá débil precipitado amorfo en suspensión

4. ENSAYOS

4.1. Aspecto

La solución acuosa al 10% de ácido metatartárico debe ser límpida, casi incolora o ligeramente ámbar.

4.2. Preparación de la solución para los ensayos

Preparar una solución de ácido metatartárico de 20 g/l en agua.

4.3. Riqueza

En un erlenmeyer de 250 ml, introducir 50 ml de la solución para los ensayos (4.2) preparada recientemente (1 g de ácido metatartárico); añadir 3 gotas de solución de azul de bromotimol de 4 g/l (R) y solución de hidróxido de sodio 1 M hasta el viraje a azul-verde. Sean **n** ml el volumen empleado.

Añadir 20 ml de solución 1 M de hidróxido de sodio, tapar y dejar 2 h a temperatura ambiente. Valorar con ácido sulfúrico 0,5 M la solución alcalina. Sean **n'** los ml empleados: 1 ml de solución hidróxido de sodio 1 M corresponde a 0,075 g de ácido tartárico.

Contenido (% en ácido total, libre y esterificado) del producto ensayado

$$7,5 (n+20-n')$$

Contenido en éster en % en función del ácido total

$$\frac{100 (20-n')}{(n+20-n')}$$

El producto enológico debe contener como mínimo un 105% de ácido tartárico total después de hidrolizado y un 32% de ácido esterificado.

4.4. Metales pesados

A partir de la solución preparada para los ensayos (4.2), determinar el contenido en metales pesados según el método de la tioacetamida descrito en el anexo.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Metatartárico (ácido)

El contenido de metales pesados expresados en plomo debe ser inferior a 10 mg/kg.

4.5. Plomo

El ensayo del contenido de plomo debe realizarse sobre la solución preparada para los ensayos (4.2), según el método descrito en el "Recueil".

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

4.6. Mercurio

A partir de la solución preparada para los ensayos (4.2), dosificar el mercurio según el método descrito en el anexo.

El contenido de mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

4.7. Arsénico

A partir de la solución preparada para los ensayos, (4.2), dosificar el arsénico según el método descrito en el anexo.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

5. CONSERVACIÓN

El ácido metatartárico debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados, y al abrigo del aire y de la humedad.

NITRÓGENO
Nitrogenum
N = 14,007
N° SIN: 941
(Oeno 19/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Gas neutro, utilizado para las operaciones de "inercia" o de desgasificación, se utiliza puro o mezclado con dióxido de carbono.

2. ETIQUETADO

El etiquetado debe mencionar la naturaleza del gas o hacer referencia a su composición y su pureza, las condiciones de seguridad también deben estar indicadas en los embalajes.

3. CARACTERÍSTICAS

Gas incoloro, inodoro e insípido. No inflamable y comburente.

El peso en gramos del litro de nitrógeno en condiciones normales es de 1,250.

A 760 mm de mercurio de presión y a 20°C, un volumen de agua disuelve 0,01507 volúmenes de nitrógeno, y un volumen de alcohol disuelve 0,1224 volúmenes de nitrógeno.

4. ENSAYOS

La pureza global de nitrógeno empleado en enología debe alcanzar 99 p. 100 de nitrógeno en volumen.

Antes de realizar cualquier medida conviene dejar escapar gas durante unos instantes para purgar las canalizaciones.

Búsqueda y cuantificación de los gases: oxígeno, óxido de carbono, argón, dióxido de carbono, etc., se determinan rápidamente por cromatografía de gases (ver este método en el anexo).

Se pueden utilizar igualmente los métodos químicos siguientes:

4.1 Fosforo de hidrógeno, arseniuro de hidrógeno y materias reductoras

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Nitrógeno

Hacer pasar 1 litro de nitrógeno a través de una mezcla de 10 ml de nitrato de plata amoniacal (R) y 15 ml de agua.

Regular el flujo de nitrógeno de tal manera que el paso del gas por la solución se efectúe en, aproximadamente, 15 minutos.

No se debe producir ni turbidez ni pardeamiento en comparación con una solución testigo idéntica a través de la cual no se pasa gas.

4.2 Oxígeno

Preparación del recipiente para la búsqueda de oxígeno.

Introducir en un frasco de, aproximadamente, 24 ml, 2 fragmentos de limaduras de cobre de 2 cm, 16 ml de solución amoniacal de sulfato de cobre (R), seguido de 2 ml de solución de diclorohidrato de hidracina (R).

Tapar el frasco con un tapón de goma, fácil de traspasar por inyecciones hipodérmicas. Unir el cuello con una cápsula metálica, seguidamente cubrirla cápsula con cera para asegurar un hermetismo perfecto. Agitar el frasco y dejarlo en reposo al abrigo de la luz hasta decoloración completa, se obtiene después de 8 días aproximadamente.

Realización del ensayo:

Traspasar el tapón de un frasco para la búsqueda de oxígeno con una aguja de 8/10 milímetros para inyecciones hipodérmicas (tener cuidado de que ésta no se introduzca en el líquido) que se utilizará para la evacuación del gas después de barbotear. Introducir, seguidamente, una segunda aguja del mismo diámetro, que contiene el gas, e introducirla en el líquido. Después de 1 minuto de barbotaje no se debe observar coloración apreciable. En presencia de oxígeno, el líquido vira rápidamente a azul y el color se intensifica con el tiempo.

El nitrógeno debe contener menos de 10 ml/l de oxígeno.

5. ACONDICIONAMIENTO

El nitrógeno se suministra en balas de acero de gran resistencia, pintado de negro y con llave . La resistencia de las balas debe ser controlada periódicamente.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Oxígeno

OXIGENO
O₂ = 32,0
N° SIN: 948
N°CAS = 7727-44-7

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Gas utilizado para las operaciones de hiperoxigenación del mosto o de oxigenación del vino. Se utiliza puro o mezclado con nitrógeno (aire reconstituido) durante el transcurso de la fermentación alcohólica (remontados).

2. ETIQUETADO

El etiquetado debe mencionar la naturaleza del gas y hacer referencia a su composición y su pureza, las condiciones de seguridad deben también indicarse en los embalajes.

3. CARACTERES

Gas incoloro, inodoro e insípido. No inflamable, mantiene la combustión.

El peso de un litro de oxígeno en las condiciones normales bajo la presión de 760 mm de mercurio y a 20°C es de 1,429 g.

Un volumen de agua disuelve 0,0325 volúmenes de oxígeno (44 mg/l).

Esta solubilidad es de 0,049 ml a 0°C (70 mg/l) y un volumen de alcohol disuelve 0,1428 volúmenes de oxígeno.

Es entonces posible disolver 44 ml de oxígeno a 20 °C en un litro de vino cuyo grado alcohólico es de 12 % vol.

En asociación con el nitrógeno (aire) la solubilidad máxima del oxígeno es de 10,27 ml/l en el agua a 20°C es decir alrededor de 13,9 ml en un litro de vino cuyo grado alcohólico es de 12 % vol.

En solución, el oxígeno puede ser determinado por polarografía.

4. ENSAYOS

La pureza global del oxígeno empleado en enología debe ser superior o igual al 99 % de oxígeno en volumen.

Antes de medir conviene dejar escapar el gas durante algunos instantes para purgar las canalizaciones.

4.1 Dosificación cromatográfica

La búsqueda y la determinación de los gases: nitrógeno, óxido de carbono (menos de 10 µl/l), argón, dióxido de carbono (menos de 300 µl/l), etc., se obtienen rápidamente por cromatografía en fase gaseosa según el método descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

4.2 Dosificación de oxígeno

Colocar una cantidad suficiente de solución de hidróxido de amonio y de cloruro de amonio preparada mezclando en volúmenes iguales agua e hidróxido de amonio y saturando con cloruro de amonio a temperatura ambiente en un aparato compuesto por:

- una bureta calibrada de 100 ml con un grifo bi-direccional,
- una pipeta de absorción de gas y
- un vaso de nivel, de la capacidad apropiada y de todas las conexiones para unir el conjunto.

Llenar la pipeta de absorción de gas de limadura de cobre, de alambre o hilo metálico o de cualquier otro sistema apropiado.

Eliminar todas las burbujas de gas del líquido en los aparatos de ensayo. Utilizar la solución de ensayo dos o tres veces sin realizar medición.

Llenar la bureta calibrada, todas las conexiones, las dos aperturas del grifo y el tubo de toma de líquido.

Conducir 100,0 ml de oxígeno en la bureta bajando el vaso de nivel.

Abrir el grifo hacia la pipeta de absorción y forzar el oxígeno a penetrar en la pipeta de absorción levantando el vaso de nivel. Agitar la pipeta para favorecer el buen contacto del líquido, del gas y del cobre.

Continuar la agitación hasta que no se produzca ninguna otra disminución de volumen.

Conducir el gas residual de nuevo en la bureta calibrada, y medir su volumen:

No debe quedar un volumen de gas superior a 1,0 ml.

Nota: en solución, el oxígeno se puede dosificar por polarografía

5. ACONDICIONAMIENTO

El oxígeno es distribuido en cilindros de acero de fuerte resistencia, pintados de blanco, con una válvula de aguja. La resistencia de estos cilindros debe ser controlada periódicamente.

PERLITA
N° CAS 93763-70-3
Perlita expandida
(Oeno 10/2003)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La perlita es una roca vítrea de origen volcánico, perteneciente al grupo de las riolitas. De composición análoga a la del vidrio, la misma está compuesta por silicato de aluminio conteniendo 1 a 2 p. 100 de agua químicamente fijada.

Para ser utilizada en enología, esta roca debe ser secada a 150 °C, molida, y sufrir luego una "expansión" por precalentamiento entre 200 y 400 °C, seguida de una proyección de la perlita en una flama a temperatura elevada de 800 °C a 1100 °C, que provoca un hinchamiento de la perlita, pudiendo ésta crecer hasta llegar a 60 veces el volumen inicial.

Ella se presenta bajo forma de un polvo blanco, cuya granulometría final es obtenida por una molturación luego de la expansión.

Constituye un adyuvante de filtración de los vinos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza y las condiciones de conservación.

3. ENSAYOS

3.1 Olor y gusto.

La perlita no debe comunicar y olor ni gusto extraño al vino. Colocar 2,5 g de perlita en un litro de vino. Agitar. Dejar reposar 24 horas. Degustar en relación al mismo vino que no haya recibido perlita.

3.2 Pérdida a la desecación

Colocar en una cápsula alrededor de 5 g de perlita. Llevar a la estufa a 103 ± 2 °C. Luego de dos horas la pérdida de peso no debe ser superior a 1 p.100.

3.3 Pérdida en la calcinación

Llevar el residuo seco obtenido en el punto 3.2 a 550 °C en un horno; la pérdida de peso no debe sobrepasar 3 p.100

3.4 Medida del pH

En un recipiente de 250 ml, colocar alrededor de 10 g de perlita, luego verter lentamente, agitando manualmente, 100 ml de agua para mojar el producto y realizar una suspensión homogénea.

Agitar de cuando en vez manualmente o con ayuda de un agitador magnético. Después de 10 minutos, dejar reposar la suspensión y medir el pH. La perlita expandida tiene un pH comprendido entre 7,5 y 10.

3.5 Productos solubles en los ácidos diluídos

Tratar a ebullición 10 g de perlita secada por 20 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 100 ml de agua. Recoger la perlita sobre un filtro sin cenizas y lavar el residuo con 100 ml de agua destilada. Luego de la desecación a 100-105 °C e incineración, separado del filtro, el residuo insoluble deberá pesar al menos 9,8 g, = 98 p.100 del producto seco.

3.6 Preparación de la solución para experimentos

En un frasco de 500 ml, que pueda ser herméticamente cerrado, colocar 200 ml de ácido cítrico a 5 g por litro llevado a pH 3 (R) y 10 g de perlita. Colocar sobre un agitador y agitar durante 1 hora a una temperatura de 20°C ± 2 °C. Dejar reposar, luego filtrar eliminando los 50 primeros ml de filtrado. Recoger al menos 100 ml de líquido claro.

3.7 Hierro

Sobre la solución para experimentos preparada según el punto 3.6, proceder a la dosificación del hierro según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional.
El contenido en hierro debe ser inferior a 300 mg/kg.

3.8 Plomo

Sobre la solución para experimentos preparada según el punto 3.6, proceder a la dosificación del plomo según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional..
El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

3.9 Mercurio

Sobre la solución para experimentos preparada según el punto 3.6, proceder a la dosificación del mercurio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional..
El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

3.10 Arsénico

Sobre 4 ml de la solución para experimentos preparada según el punto 3.6, proceder a la dosificación del arsénico según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional..

El contenido en arsénico debe ser inferior a 5 mg/kg.

3.11 Cadmio

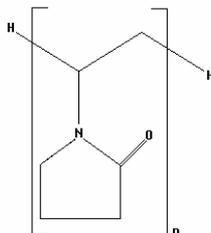
Sobre la solución para ensayos preparada según el punto 3.6, dosificar el cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional..

El contenido de cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

4. CONSERVACION

La perlita debe ser conservada en lugares secos bien ventilados en bolsas herméticas, en locales templados.

POLIVINILPOLIPIRROLIDONA
POVIDONA
(PVPP)
(C₆H₉NO)_n = (111,1)_n
N° SIN : 1202
(Oeno 11/2002)



1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La polivinilpirrolidona insoluble es un polímero poli[1-(2-oxo-1-pirrolidiniletieno)] reticulado para hacerla insoluble. Se fabrica por polimerización de la N-vinil-2-pirrolidona en presencia de diversos catalizadores (por ejemplo hidróxido de sodio) o en presencia de N,N'-divinilimidazolidona.

La PVPP fija los polifenoles de los vinos, adsorción que depende del índice de polimerización. La dosis utilizable es limitada.

2. SINONIMOS

poli (1-etenilpirrolidin-2-ona)

Crospovidona (nomenclatura de la farmacopea)

Polividona reticulada

Homopolímero reticulado de 1-etenil-2-pirrolidona

Polímero reticulado insoluble de la N-vinil-2-pirrolidona

P.V.P. insoluble

Polivinilpirrolidona (PVPP).

3. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar que la PVPP es de uso enológico, la eficacia mínima garantizada en relación al test y las condiciones de seguridad y de conservación.

4. CARACTERÍSTICAS

Polvo ligero, entre blanco y blanco crema.

Insoluble en el agua y en los solventes orgánicos.

Insoluble en los ácidos minerales fuertes y los alcalinos.

5. ENSAYOS

5.1 Pérdida en la desecación

Poner 2 g de PVPP en una cápsula de silicio de 70 mm de diámetro ; desecar en la estufa a 100-105° C durante 6 horas.

Dejar enfriar en desecador. Pesar. La pérdida de peso debe ser inferior a 5 p. 100.

Es igualmente posible efectuar esta medición más rápidamente por valoración con el procedimiento Karl-Fischer. (F.V. 1076)

Observación: todos los límites fijados aquí arriba están referidos al producto seco .

5.2 Cenizas

Incinerar progresivamente sin sobrepasar 600° C el residuo dejado en el ensayo 5.1. El peso de las cenizas debe ser inferior a 0,5 p. 100.

5.3 Preparación de la solución para ensayos

Después de haber pesado las cenizas, disolverlas en 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua destilada. Calentar para activar la disolución. Llevar a 20 ml con agua destilada. 1 ml de esta solución contiene las materias minerales de 0,10 g de PVPP.

5.4 Metales pesados

10 ml de solución preparada según el punto 5.3 se ponen en un tubo de ensayo con 2 ml de una solución tampón pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo a la tioceramida (R). No debe producirse precipitado alguno. Si aparece una coloración marrón, ésta debe ser inferior a aquella presentada por el testigo como se indica en el Capítulo II.

El contenido en metales pesados, expresado en plomo, debe ser inferior a 10 mg/kg.

5.5 Plomo

Sobre la solución para ensayos preparada según el punto 5.3, dosificar el plomo por espectrofotometría de absorción atómica

según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

5.6 Mercurio

Dosificar el mercurio según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.7 Zinc

Dosificar el zinc según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en zinc debe ser inferior a 5 mg/kg.

5.8 Arsénico

Dosificar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

5.9 Cadmio

Realizar la dosificación del cadmio según el método descrito en el Capítulo II del Codex enológico internacional por espectrometría de absorción atómica. El contenido en cadmio debe ser inferior a 1 mg/kg.

5.10 Sulfatos

Dosificar los sulfatos según el método descrito en el Capítulo II. El contenido en sulfatos debe ser inferior a 1 g/kg.

5.11 Dosificación del nitrógeno total

Introducir alrededor de 0,20 g de PVPP exactamente pesada en un matraz de 300 ml con 15 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 2 g de catalizador de mineralización (R) y continuar la operación como se indica en el Capítulo II.

El contenido del nitrógeno total debe estar comprendido entre 11 y 12,8 %.

5.12 Solubilidad en medio acuoso

Introducir 10 g de PVPP en un matraz de 200 ml conteniendo 100 ml de agua destilada. Agitar y dejar en contacto durante 24 horas. Filtrar con un filtro de porosidad 2,5 μm luego sobre un filtro de porosidad 0,8 μm . El residuo dejado por la evaporación del filtrado seco, sobre baño de agua a 100° C, debe ser inferior a 50 mg. La solubilidad en el agua debe ser inferior a 0,5 p. 100.

5.13 Solubilidad en medio ácido y alcohólico.

Introducir 1 g de PVPP en un matraz conteniendo 500 ml de la mezcla siguiente:

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Polivinilpolipirrolidona

Acido acético	3 g
Etanol	10 ml
Agua	100 ml

Dejar en contacto durante 24 horas. Filtrar con un filtro de porosidad 2,5 μm luego sobre un filtro de porosidad 0,8 μm . Concentrar el filtrado sobre un baño de agua a 100° C. Terminar la evaporación sobre baño de agua a 100° C en una cápsula en silicio de 70 mm de diámetro previamente tarada. El residuo dejado por la evaporación a sequedad debe ser inferior a 10 mg, tenida cuenta del residuo eventualmente dejado por la evaporación de 500 ml de la mezcla ácido acético – etanol. La solubilidad en medio acético y alcohólico debe ser inferior a 1 p. 100.

6. EFICACIA DE LA PVPP EN RELACION A LA ADSORCION DE LOS COMPONENTES POLIFENOLICOS.

6.1. Test al ácido salicílico

6.1.1 Reactivos:

- Solución de hidróxido de sodio 0,1 M.
- Solución de ácido salicílico 0,1 M (disolver 13,81 g de ácido salicílico en 500 ml de metanol diluído a 1 l con agua).

6.1.2 Modo operatorio:

- Pesar 2-3 gramos de PVPP en un matraz erlenmeyer de 250 ml y anotar el peso W , con una precisión de $\pm 0,001$ g.
- Calcular el extracto seco de la muestra (porcentaje de sólido) anotar P en % con exactitud decimal.
- Agregar la solución de ácido salicílico 0,1 M según la fórmula: $43 \cdot W \cdot P = \text{ml a agregar}$
- Cerrar el frasco y agitar durante 5 minutos.
- Verter la mezcla a 25°C en un filtro colocado sobre un embudo Büchner conectado a un frasco de 250 ml; hacer el vacío hasta obtener al menos 50 ml de filtrado (el filtrado debe ser claro).
- Pipetear 50 ml de filtrado y ponerlo en un matraz erlenmeyer de 250 ml.

- Determinar con una solución de hidróxido de sodio 0,1 M el punto de neutralización a la fenolftaleína y anotar el volumen V_s .
- Valorar 50 ml de una solución de ácido salicílico (testigo) de la misma manera y anotar el volumen V_b .

6.1.3 Cálculo :

$$\% \text{ actividad} = \frac{V_b - V_s}{V_b} \cdot 100$$

El porcentaje de actividad debe ser igual o superior a 30 p. 100

6 .2. Determinación de la capacidad de adsorción de la enocianina (30p. 100 mínimo)

6.2.1. Principio

Una pequeña cantidad de PVPP se pone en contacto con una solución de enocianina durante 5 minutos. La adsorción a 280 nm de la solución de enocianina tratada se compara a aquella de la solución patrón en relación a un blanco compuesto solamente de solvente. La reducción de la adsorción a 280 nm se utiliza como medida relativa de la capacidad de la PVPP a adsorber la enocianina.

6.2.2. Reactivos

- enocianina (hidrato de)
- Etanol (absoluto)
- Agua destilada.

6.2.3. Aparatos

- Espectrofotómetro, UV visible.
- cubetas en cuarzo, 1 cm de recorrido óptico.
- Vasos de, 150 ml.
- Matraz aforado, 1 litro.
- Barras de agitación en teflón y agitador magnético.
- Jeringas.
- Filtros para jeringas (porosidad 0,45 μm).

6.2.4. Método

- Solución E. Disolver 80 mg de hidrato de enocianina en 50 ml de etanol. Transferir cuantitativamente en un matraz aforado de 1 litro (con agua destilada) y enrasar con el agua

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Polivinilpolipirrolidona

destilada. Etiquetar con el nombre de Solución E, y conservar en un frasco ámbar. Esta solución es la solución patrón.

- Solución R. Preparar la solución de referencia diluyendo 50 ml de etanol en 1 litro de agua destilada. Esta solución es la solución R (de referencia).

- Pesar, por triplicado, 50 mg \pm 0,1 mg de la muestra en vasos de 150 ml. Agregar la barra de agitación y poner sobre un agitador magnético.

NOTA :El tiempo de contacto entre la muestra y la solución es *crítico*. En el transcurso de las etapas siguientes, la adición de la solución se hará escalonadamente, con la finalidad de prever exactamente 5 minutos entre la introducción de la solución y la filtración de cada muestra.

- Con ayuda de una pipeta, agregar 100 ml de la solución E a dos de las muestras y agregar 100 ml de la solución R a la tercera muestra. Poner el minutero en marcha después de agregar los 100 ml.

- Agitar durante 5 minutos \pm 5 segundos.

- Retirar inmediatamente una parte de la solución y filtrar en un matraz limpio, con ayuda de una jeringa y de un filtro de 0,45 μ m de diametro . Las soluciones filtradas pueden ser conservadas en un lugar fresco y a la sombra durante 1 hora como máximo antes de medir la absorbancia absorbanciaUV.

- Instalar el espectrofotómetro UV de acuerdo con las instrucciones del fabricante correspondiente con el fin de medir la absorbancia a 280 nm. Poner el aparato a cero sobre 280 nm utilizando la solución R como blanco.

- Medir el grado de absorbancia de cada extracto filtrado a 280 nm en relación a la solución R utilizando cubetas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico.

6.2.5. Cálculos

$$\text{Capacidad adsorbente} = \frac{A_o - (A_T - A_B) \times 100}{A_B}$$

Sabiendo que :

A_o = Absorbancia de la solución E

A_T = Absorbancia de la solución muestra

A_B = Absorbancia de la solución en blanco (PVPP sin catecol)

Obtener el promedio de las dos soluciones muestra.

7. DETERMINACION DEL MONOMERO N-VINYL-2-PIRROLIDONA EN LA PVPP POR MEDIO DE LA CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTO EFICACIA(CLAE) CON DETECCION UV.

7.1. Principio

El monómero N-vinil-2-pirrolidona se extrae del polímero PVP con el metanol. La solución de metanol se analiza por CLAR utilizando una columna en fase inversa de tipo C8 desactivada. La cuantificación se efectúa por detección UV a 235 nm. La PVP soluble se elimina de la cabeza de la columna por una técnica de circulación inversa automática (backflush).

Este método es aplicable a las muestras cuya concentración en monómero está comprendida entre 0,4 y 100 mg/l.

El contenido en N-vinil-2-pirrolidona en la PVPP no debe exceder 10 mg por kg.

7.2. Reactivos

- Metanol, clase CLAR .
- Agua microfiltrada de resistividad > 18 MΩ.
- N-vinil-2-pirrolidona

7.3. Aparatos

7.3.1 Material de vidrio

- Conjunto de CLAE para filtrar los solventes; enteramente de vidrio.
- Filtros para fases móviles, nylon 0,45 µm.
- Pipetas graduadas (10, 20 y 100 ml).
- Matraces aforados (100 et 1000 ml).
- Pipetas de 7,5 ml, en polietileno.
- Espátulas que convengan a la manipulación de gramos de polvo.
- Pequeños matraces con tapón de polietileno.
- Filtros de porosidad 0,46 µm en microfibra de vidrio.

7.3.2 Instrumentos

- Balanza que permita la lectura hasta 0,1 mg.
- Agitador magnético
- Sistema CLAR con columna de tipo C8 y detector UV-Visible.

7.4. Modo de operación

7.4.1. Preparación de la fase móvil

- Con ayuda de una pipeta introducir 200 ml de metanol calidad CLAE en un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua calidad CLAE y mezclar.
- Filtrar/desgasificar la fase móvil y transferirla luego en el recipiente de solvente para la bombeo CLAE.

7.4.2. Preparación de los patrones

- Solución patrón VP 1000 mg/l
Pesar alrededor de 100 mg de N-vinil-2-pirrolidona con una exactitud de 0,1 mg, en un matraz aforado graduado de 100 ml. Enrasar con la fase móvil.
- Solución patrón VP 100 mg/l
Diluir 10 ml de la solución de 1000 mg/l con la fase móvil, a 100 ml.
- Solución patrón VP 10 mg/l.
Diluir 10 ml de la solución de 100 mg/l, con la fase móvil, a 100 ml.
- Solución patrón VP 1 mg/l
Diluir 10 ml de la solución de 10 mg/l, con la fase móvil, a 100 ml.

7.4.3. Preparación de la muestra

- En un pequeño matraz, pesar alrededor de 2,0 g de PVPP con una exactitud de 0,1 mg.
- Con ayuda de una pipeta, introducir 20 ml de metanol clase CLHP en el matraz conteniendo la muestra.
- Cerrar herméticamente el matraz y ponerlo sobre el agitador automático. Extraer durante una hora a una velocidad de 130 rotaciones por minuto.
- Después de una hora, retirar el matraz del agitador. Filtrar el líquido de la superficie a través de un filtro de porosidad 0,45 µm en microfibra de vidrio.

7.4.4. Análisis por CLAE

- Conectar el aparato de CLAE conforme a las instrucciones del fabricante y equilibrar la columna y el detector con la fase móvil durante al menos una hora antes de analizar el patrón y las muestras.

Condiciones de CLAE (a modo de ejemplo) :

Vol. de inyección	20 microlitros
Flujo de la fase móvil	1 ml/minuto
Detección	235 nm

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Polivinilpirrolidona

Duración 10 minutos para los patrones sin circulación inversa de columna y 60 minutos para las muestras con circulación inversa de columna, de los cuales 10 minutos para la circulación inversa y 55 minutos para el reacondicionamiento de la columna.

- Inyectar un patrón de 10 mg/l de N-vinil-2-pirrolidona (concentración absoluta) tres veces cada 6 a 10 muestras con la finalidad de comprobar el buen funcionamiento del sistema.

7.4.5. Cálculos

$$\text{mg/l de VP} = \frac{20 \times (\text{área de pico de la muestra}) \times (\text{Factor de respuesta})}{\text{muestra en gramos}}$$

con factor de respuesta =
$$\frac{(\text{concentración del patrón en mg/l})}{(\text{área de pico del patrón})}$$

Observación :

- Límite de detección y cantidad mínima cuantificable

El límite de detección (señal/ruido = 3 para una muestra de PVPP con un contenido de 0,27 mg/l en N-vinil-2-pirrolidona) es de ~ 0,10 mg/l con una cantidad mínima cuantificable (señal/ruido = 10) de 0,33 mg/l.

- Recuperación

En un ensayo realizado en laboratorio, la recuperación de la N-vinil-2-pirrolidona, a la que se había añadido PVPP a razón de 1, 10 y 100 mg/l de VP, ha sido respectivamente 108 %, 99,0 % y 102 %

- Tiempo de retención

El tiempo de retención medio del pico de N-vinil-2-pirrolidona (a la concentración de 10 mg/l) es de $6,34 \pm 0,08$ minutos, para un sistema columna + precolumna de 13 cm de largo.

- Interferencias

La duración apropiada de circulación inversa será determinada para cada sistema y se realizará rigurosamente, de lo contrario, se podría producir un bloqueo de la columna.

8. DETERMINACION DE LA N,N'-DIVINILIMIDAZOLIDONA LIBRE EN LA PVPP POR MEDIO DE LA CROMATOGRAFIA EN FASE GASEOSA.

Esta determinación debe ser realizada cuando la técnica de preparación de la PVPP utiliza la N,N'-divinilimidazolidona.

- el contenido en N,N'-divinilimidazolidona libre en la PVPP no debe exceder 2 mg por kg.

8.1. Principio

Dosificación por cromatografía en fase gaseosa con columna capilar de la N,N'-divinilimidazolidona libre en un solvente (acetona) a partir de PVPP no soluble. El límite de detección es de 1 mg/kg.

8.2. Solución del patrón interno:

Disolver 100 mg de nitrilo de ácido heptanoico pesado con una exactitud de $\pm 0,1$ mg en 500 ml de acetona.

8.3. Preparación de la muestra

Pesar de 2 a 2,5 g de polímero con una exactitud de 0,2 mg y verter en un matraz erlenmeyer de 50 ml. Con ayuda de una pipeta, agregar 5 ml de solución del patrón interno, luego 20 ml de acetona. Agitar la muestra durante 4 horas, luego dejar reposar y estabilizar por lo menos 15 horas. Analizar el líquido de la superficie por cromatografía en fase gaseosa.

8.4. Solución de calibración

Pesar 25 mg de N,N'-divinilimidazolidona con una exactitud de \pm 0,2 mg y verter en un matraz aforado; llevar a 100 ml con acetona. Con una pipeta, transferir 2,0 ml de esta solución en un matraz aforado de 50 ml y llevar a 50 ml con acetona. Transvasar 2 ml de esta solución en un matraz aforado de 25 ml, agregar 5 ml de la solución del patrón interno (ver ut supra) y enrasar con acetona.

8.5. Condiciones de la cromatografía en fase gaseosa (a modo de ejemplo) :

Columna (silice fundida) capilar (Carbowax reticulado- 20 M), largo 30 m, diámetro	
Interior 0,25 mm, espesor de la película 0,5 μ m.	
Columna temperatura programada 140°C a 240°C, 4°C/ minuto.	
Inyector	inyector split, 220°C. Caudal de purga 30 ml/min.
Detector	detector termoinico (optimizado conforme a las instrucciones del fabricante), 250°C.
Gas vector	Helio, 1 bar (supresión).
Volumen inyectado	1 μ l de solución sobrenadante de la muestra o de solución de calibración.

8.6. Procedimiento

Validación del factor de respuesta para las condiciones específicas de análisis gracias a inyecciones repetidas de solución de calibración.

Análisis de la muestra. El contenido en N,N'-divinilimidazolidona en la PVPP no soluble no debe ser superior a 0,1 %.

8.7. Cálculo del factor de respuesta:

$$f = \frac{W_d \times A_{se}}{W_{se} \times A_d}$$

W_d - cantidad de N,N'-divinilimidazolidona utilizada (mg)

W_{se} - cantidad de patrón interno (mg)

A_{se} - area del pico del patrón interno

A_d - area del pico de la N,N'-divinilimidazolidona.

8.8. Cálculo del contenido en N,N'-divinilimidazolidona :

$$C_D = \frac{1000 \cdot f \cdot A_d \cdot W_{se}}{A_{se} \cdot W_s} \text{ (mg/kg)}$$

C_D = concentración de la N,N'-divinilimidazolidona (mg/kg)

f = factor de respuesta

A_d = area del pico para la N,N'-divinilimidazolidona

W_{se} = cantidad de patrón interno agregada a la muestra(mg)

A_{se} = area del pico del patrón interno

W_s = cantidad de muestra utilizada (g)

9. CONSERVACION

La PVPP debe ser conservada en lugares ventilados en recipientes herméticos al abrigo de elementos volátiles que podría absorber.

Declaración de Dinamarca:

"Toda vez que existan diferencias en las especificaciones de pureza, en las definiciones y en los métodos de análisis entre la OIV y otras organizaciones intergubernamentales competentes, como el Codex Alimentarius y la Unión Europea, Dinamarca cree que todos los esfuerzos posibles deben ser realizados para identificar la razón por la cual esas diferencias existen y para intentar atenuar en la medida de lo posible, para evitar la existencia de reglamentaciones internacionales diferentes sobre un mismo tema."

ANEXO

Procedimiento Karl-Fischer

1. CAMPO DE APLICACION

Este método tiene por objeto determinar el contenido en agua de la PVP de ligadura transversal. Los residuos de vinolpirrolidona no interferirán en los contenidos habitualmente presentes (0,1%). El método detectará el agua en concentraciones superiores a 0,05% (m/m).

2. PRINCIPIO

La muestra se disuelve en metanol anhidro y se valora con ayuda del reactivo Karl-Fischer (KF) sin piridina. El agua reacciona con la solución de valoración de la manera siguiente:



El punto final (exceso I_2) es determinado controlando el cambio de la corriente entre dos microelectrodos de platino polarizados. El valorador KF típico está totalmente automatizado y calcula directamente los contenidos de agua

3. REACTIVOS

1. Reactivo Karl-Fischer sin piridina.
2. Metanol anhidro
3. Gel de sílice con indicador de humedad para la desecación del tubo en la célula.
4. El estándar analítico puede obtenerse en los laboratorios especializados (en la actualidad BASF D-67056 Ludwigshafen)

4. APARATO

Valorador Karl Fischer

5. METODO

1. Llenar el recipiente de valoración con 50 ml de metanol anhidro o una cantidad suficiente para cubrir los electrodos. Llenar el tubo de desecación por encima de la célula con gel de sílice fresco.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Polivinilpolipirrolidona

2. Valorar la solución de valoración utilizando agua destilada como patrón. Consignar el peso de la muestra y de la tara, como se indica en el manual de los instrumentos. El aparato calculará automáticamente el promedio de la valoración y lo retendrá en la memoria. En el caso de aparatos más antiguos, calcular el promedio de la valoración (a saber, la solución de titulado H₂O/ml en mg) para tres determinaciones. Si se dispone de una interfase de balanza analítica para consignar el peso de la muestra, seguir las instrucciones del manual.
3. Agregar 0,075 g a 0,150 g de muestra (con una exactitud de 0,1 mg) en el recipiente de reacción y agitar durante 2 minutos. Consignar el peso de la muestra y de la tara. El aparato medirá el titulado y determinará automáticamente el porcentaje de contenido en agua.
4. Hacer el análisis por duplicado

6. CALCULOS

1. Título de la solución de valoración KF, T

$$\frac{\text{Patrón de agua (en mg)}}{\text{Solución de valoración utilizada (en ml)}}$$

2. % de agua en la muestra

$$\frac{0,1 TV}{S}$$

Siendo V = ml de solución de valoración utilizada
S = peso de la muestra en gramos

1. INTERFERENCIAS

Concentraciones elevadas de residuos de vinilpirrolidona (>0,5 %) reaccionarán con el yodo y darán resultados muy inexactos.

(Un índice residual de vinilpirrolidona de 1% (p/p) corresponde a un aumento en el contenido de agua de 0,16% (m/m)). Un exceso de base en la muestra puede modificar el pH de la solución y dar resultados poco elevados. Las muestras con pH >8 deberán ser tamponadas con 5 g de ácido benzoico para 50 ml.

POTASIO (ALGINATO DE)
Kalii Alginas
N° SIN: 402
(Oeno 33/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Sal de potasio del ácido algínico, extraído de varias algas feofícias sobre todo de las laminares, por digestión alcalina y purificación. Producto clarificante en el curso de la segunda fermentación en botella de los vinos espumosos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe indicar la pureza, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

El alginato de potasio es un polvo blanco o amarillento, casi inodoro e insípido, que se presenta, mirado al microscopio, compuesto por fragmento de fibras.

Da con el agua una solución viscosa. El pH de esta solución está normalmente comprendido entre 6 y 8. Es insoluble en alcohol y en la mayor parte de los disolventes orgánicos.

Si a 5 ml de una solución acuosa al 1 p. 100 de alginato de potasio (m/v) se añaden 0,50 ml de solución de cloruro de calcio al 20 p. 100 (R) se forma un precipitado gelatinoso de alginato de calcio.

Si a 10 ml de una solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) de alginato de potasio, se añade 1 ml de ácido sulfúrico diluido al 10 p. 100 (R), se forma un precipitado gelatinoso de ácido algínico.

4. ENSAYOS

4.1 Almidón

A 5 ml de solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) de alginato de potasio, añadir 5 ml de agua yodada (R); no se debe producir coloración azul.

4.2 Gelatina

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (alginato de)

A 10 ml de solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) de alginato de potasio añadir 1 ml de solución caliente de tanino al 2 p. 100 (R); no se debe producir precipitado.

4.3 Pérdida por desecación

La pérdida de peso de una alícuota cercana a 1 g pesada exactamente determinada a 100- 105°C hasta peso constante, no debe ser superior al 15 p. 100.

Todos los límites fijados a continuación se refieren a producto seco.

4.4 Cenizas sulfúricas

Determinar las cenizas sulfúricas, como se indica en el anexo, sobre el residuo del ensayo precedente (4.3), el contenido de cenizas sulfúricas del alginato de potasio no debe ser superior a 40 p. 100.

4.5 Preparación de la solución para los ensayos

En una cápsula de sílice calcinar un peso de muestra que corresponda a 2,5 g de producto seco, sin sobrepasar 550°C. Recoger el residuo con 10 ml de agua y 2 ml de ácido nítrico concentrado (R). Transvasar a un matraz aforado de 50 ml, añadir 2 ml de hidróxido de amonio concentrado (R). Enrasar con agua destilada. Filtrar.

4.6 Sulfatos

A 2 ml de la solución preparada para los ensayos (4.5), añadir 2 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) llevar a 20 ml con agua destilada y añadir 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg)

4.7 Cloruros

A 1 ml de solución preparada para los ensayos (4.5), añadir 14 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). Si se produce una opalescencia ésta debe ser inferior a la de una solución testigo preparada como se indica en el anexo. (Contenido en cloruros expresado en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

4.8 Hierro

A 2 ml de la solución preparada para ensayos (4.5), añadir 8 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) una gota de permanganato de potasio al 1 p. 100 y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 3 ml de solución de hierro(III) de 0,010 g de hierro por litro (R), 7 ml de agua y cantidades iguales de ácido clorhídrico concentrado (R) y de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R) (contenido de hierro inferior a 300 mg/kg).

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

4.9 Cadmio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el cadmio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de cadmio inferior a 1 mg/kg).

4.10 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

4.11 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1 mg/kg).

4.12 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

4.13 Sodio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el sodio por fotometría de llama. (Contenido de sodio inferior a 1 p. 100).

5. CONSERVACIÓN

El alginato de potasio debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados.

POTASIO (ANHIDROSULFITO DE)
Pirosulfito de potasio
Disulfito de potasio
Metabisulfito de potasio
Kalii metabisulfis
 $K_2S_2O_5 = 222,3$
N° SIN: 224
(Oeno 34/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El anhidrosulfito de potasio, llamado comúnmente metabisulfito de potasio, se utiliza debido al dióxido de azufre que aporta, se presenta en forma pulverulenta. Contiene entre el 52 y el 55 p. 100 de su peso en SO_2 .

Existen límites reglamentarios en cuanto al contenido de dióxido de azufre en los vinos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto y las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Dióxido de azufre	57,63
Potasio	35,17

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	454,5 g/l
Alcohol a 95% vol.	insoluble

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 5.1** 5 ml de solución acuosa al 10 p. 100 (m/v) tratados con 5 ml de solución de ácido sulfúrico diluidos al 10 p. 100 (R) desprenden dióxido de azufre y reducen el yodo y el permanganato potásico.
- 5.2** La solución acuosa al 10 p. 100 (m/v) es ácida al rojo de metilo (R) (pH cercano a 5).
- 5.3** La solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) da las reacciones del potasio.

6. ENSAYOS

6.1 Preparación de la solución para los ensayos al 10 p. 100

Preparar una solución al 10 p. 100 (m/v).

6.2 Preparación de la solución para los ensayos al 1 p. 100

Preparar una solución al 1 p. 100 (m/v). por dilución 1 a 10 de la solución precedente (6.1).

6.3 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos al 10 p. 100 (m/v) (6.1), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

6.4 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos al 10 p. 100 (m/v) (6.1) determinar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

6.5 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos al 10 p. 100 (m/v) (6.1) determinar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

6.6 Selenio

Pesar 2,60 g de anhídrosulfito de potasio, cantidad que contiene 1,5 g de dióxido de azufre. Disolverlos en caliente en 7 ml de agua destilada y 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R). Dejar enfriar y añadir 3 ml de solución de formaldehído (R). Dejar reposar 10 minutos. Colocar el tubo en un baño de agua a 100°C y añadir 50 mg de anhídrosulfito de potasio pulverizado, exento de selenio (R); dejar el tubo en el baño de agua a 100°C durante 15 minutos. Si se desarrolla una coloración rosa debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado tratando de la misma manera 2,60 g de anhídrosulfito de potasio exento de selenio (R) adicionado de 0,45 ml de una solución de dióxido de selenio de 100 mg de selenio por litro (R). (Contenido en selenio referido al dióxido de azufre, inferior a 10 mg/kg).

6.7 Sodio

Evaporar en un baño de agua a 100°C, hasta reducción a la mitad 10 ml de la solución preparada para los ensayos al 1 p. 100 (m/v) (6.2), con 2 ml de ácido acético (R).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (anhidrosulfito de)

Verter en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua. Medir el sodio por fotometría de llama. (Contenido en sodio inferior a 2 p. 100).

6.8 Cloruros

Colocar en una cápsula 0,5 ml de solución preparada para los ensayos al 10 p. 100 (m/v) (6.1) con 10 ml de agua y 3 ml de solución de ácido sulfúrico al 10 p. 100 (R); evaporar en el baño de agua a 100°C volviendo a llevar el volumen a 5 ml. Transvasar a un tubo de ensayo; llevar el volumen a 15 ml, añadir 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). El líquido debe permanecer límpido, o la turbidez debe ser inferior a la presentada por el testigo como se indica en el anexo. (Contenido en cloruros expresado en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

6.9 Hierro

Sobre la solución preparada para los ensayos al 10 p. 100 (m/v) (6.1) determinar el hierro por espectrofotometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido inferior a 50 mg/kg de Fe).

7. DETERMINACIÓN

Dióxido de azufre: en un matraz cónico de 200 ml, colocar 50 ml de una solución de dietilendiaminotetracetato disódico de 120 mg por litro, añadir 10 ml de la solución de anhidrosulfito de potasio al 1 p. 100 recientemente preparada y valorar con yodo 0,05 M. Sea **n** ml de volumen empleado, 1 ml de solución de yodo 0,05 M corresponde a 3,2 mg de dióxido de azufre. Contenido en dióxido de azufre en 100 g: 3,2 **n**.

El anhidrosulfito de potasio debe contener al menos 51,8 p. 100 de dióxido de azufre.

8. CONSERVACIÓN

Este producto, siendo alterable al aire, debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados.

POTASIO (CASEINATO DE)
(Oeno 35/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El caseinato de potasio se obtiene a partir de la leche desnatada, fresca y/o pasteurizada, por coagulación ácida de la caseína (ver esa monografía), neutralización con hidróxido de potasio y secado mediante atomización. Se utiliza para la clarificación de los vinos.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto y las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

El caseinato de potasio se presenta bajo la forma de un polvo blanco ligeramente amarillento con un olor típico debido a las proteínas de la leche, pero sin sabor ni olor anormal. En el agua, da una solución coloidal.

4. ENSAYOS

4.1 PH

En solución de agua de 5 g de caseinato por 100 ml de agua, el pH deberá ser de $7,0 \pm 0,5$.

4.2 Pérdida por desecación

Determinar hasta peso constante sobre una alícuota exactamente pesada, cercana a 2 g, la pérdida de peso a 100-105°C. No debe ser superior al 6 p. 100.

Todos los límites fijados a continuación se refieren a producto seco.

4.3 Cenizas

Incinerar, sin sobrepasar 550°C el residuo de la determinación de la pérdida por desecación. El peso de cenizas no debe ser superior al 6 p. 100.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (caseinato de)

4.4 Preparación de la solución para los ensayos

Después de pesadas, disolver las cenizas en 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 10 ml de agua. Calentar para activar la disolución y completar a 50 ml con agua.

4.5 Potasio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.4), determinar el potasio por fotometría de llama. Contenido en potasio no superior a 2 p. 100.

4.6 Hierro

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.4), medir el hierro por espectrofotometría de absorción atómica. (Contenido en hierro inferior a 200 mg/kg).

4.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.4), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

4.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.4) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1 mg/kg).

4.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.4) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

4.10 Nitrógeno total

Introducir alrededor de 0,20 g de caseinato de potasio, exactamente pesado, en un matraz de mineralización con 15 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), 2 g de catalizador de mineralización (R) y seguir el procedimiento de acuerdo con el método descrito en el anexo. El contenido en nitrógeno total no debe ser inferior a 13 p. 100.

4.11 Materia grasa

El contenido en materia grasa, medido de acuerdo a un método a determinar no debe sobrepasar 2 p. 100 en peso.

5. CONSERVACIÓN

El caseinato de potasio debe ser conservado en recipientes herméticos, por ejemplo acondicionado en sacos de papel dobles de polietileno, a una temperatura comprendida entre 5 y 20°C y con una humedad relativa inferior a 65 p. 100. La duración de conservación del caseinato de potasio es de 24 meses.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (racemato de)

POTASIO (D,L-TARTRATO DE)
Potasio (D,L-2,3-dihidroxibutanodioato de)
Racemato de potasio
COOK - CHOH - CHOH - COOK = 226,3
(Oeno 42/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Sal destinada a la desacidificación de los mostos y de los vinos y a eliminar el exceso de calcio. Su empleo está sometido al cumplimiento de determinadas reglas.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto y las condiciones de seguridad y conservación . Debe indicar también, claramente, que se trata de una mezcla racémica de 2 isómeros D y L del ácido tartárico, con el fin de evitar que se suponga que se trata de ácido L-tartárico natural de la uva.

3. CARACTERÍSTICAS

Se trata de la sal dipotásica del ácido D,L-tartárico o ácido tartárico racémico:



Se presenta bajo forma de cristales blancos o de polvo granulado blanco.

Es muy soluble en agua.

4. ENSAYOS

4.1 Pérdida por desecación (materias volátiles)

Después de 4 horas de desecación en estufa a 105°C, la pérdida de peso no debe ser superior a 1 p. 100.

4.2 Preparación de la solución para los ensayos

En un matraz aforado de 100 ml colocar 10 g de racemato de potasio y enrasar con agua.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (racemato de)

Sobre esta solución efectuar los mismos ensayos que los que figuran en la monografía del tartrato neutro de potasio, incluido el sodio, y aplicar los mismos límites.

4.3 Distinción con el tartrato neutro de potasio

Actuar como está indicado en la monografía del tartrato neutro de potasio; se debe producir, instantáneamente, un precipitado cristalino blanco.

4.4 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

4.5 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

4.6 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

4.7 Oxalato

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el oxalato de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido expresado en ácido oxálico inferior a 100 mg/kg).

5. CONSERVACIÓN

El tartrato de potasio debe ser conservado en un recipiente herméticamente cerrado.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (hexacianoferrato(II) de)

POTASIO (HEXACIANO Ferrato(II) DE)
Potasio (Ferrocianuro de)
Cianuretum ferroso - Kalium
 $K_4 [Fe(CN)_6], 3H_2O = 422,40$
N° SIN: 536
(Oeno 36/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El hexacianoferrato(II) de potasio se presenta bajo forma de cristales monoclinicos, amarillos, inodoros y de sabor a la vez salado y amargo, de densidad 1,935 a 20°C.

Esta sal, ligeramente eflorescente, comienza a perder su agua de cristalización hacia 60°C y se deshidrata completamente en la estufa a 100°C, volviéndose blanca e hidrosκόpica.

Las soluciones acuosas, recientemente preparadas, presentan color amarillo, se alteran lentamente con la luz, con liberación del ión alcalino y toman un color verdusco debido a la formación de una pequeña cantidad de azul de prusia.

El hexacianoferrato(II) de potasio se utiliza para eliminar los iones hierro(III) y hierro(II) en los vinos susceptibles de provocar una quiebra férrica, pero también para evitar la quiebra cuprosa y, generalmente, para disminuir el contenido en metales pesados.

Su empleo está sometido a un control riguroso obligatorio.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto y las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

La solución acuosa al 1 p. 100 (m/v) da las reacciones de los iones hexacianoferrato(II) y potasio; Particularmente con el catión hierro(III) da un precipitado azul oscuro de hexacianoferrato(II) de hierro(III) (azul de prusia) insoluble en los ácidos minerales diluidos y con el catión cobre un precipitado púrpura de hexacianoferrato(II) de cobre(II) insoluble en los ácidos minerales diluidos.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	265 g/l
Agua a 100°C	740 g/l

5. ENSAYOS

5.1 Pérdida por desecación

Colocar 1 g de hexacianoferrato(II) de potasio pulverizado en una cápsula tarada y desecar en la estufa a 100°C hasta peso constante. La pérdida de peso debe estar comprendida entre el 12 y 13 p. 100.

5.2 Productos insolubles

Disolver 10 g de hexacianoferrato(II) de potasio en 100 ml de agua. La solución debe ser límpida.

5.3 Preparación de la solución para los ensayos

En una cápsula de sílice calcinar 1 g de hexacianoferrato(II) de potasio sin sobrepasar 550°C. Recoger el residuo con 10 ml de agua y 2 ml de ácido nítrico concentrado (R). Transvasar a un matraz aforado de 50 ml, añadir 5 ml de hidróxido de amonio concentrado (R). Enrasar con agua destilada. Filtrar.

5.4 Cloruros

A 1,5 ml de solución preparada para los ensayos (5.3), añadir 12,5 ml de agua destilada, 5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). Si se produce una opalescencia ésta debe ser inferior a la de una solución testigo preparada como está indicada en el anexo. (Contenido en cloruros expresado en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

5.5 Sulfatos

A 5 ml de la solución preparada para los ensayos (5.3), añadir 2 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) llevar a 20 ml con agua destilada y añadir 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg)

5.6 Sulfuros

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (hexacianoferrato(II) de)

En un matraz de fondo redondo de 100 ml y un aparato de destilación provisto de una pequeña columna de rectificación o de cualquier otro dispositivo antiespumante (destinado a evitar el paso directo de líquido del matraz al destilado), disolver 1 g de hexacianoferrato(II) de potasio en 10 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 10 ml de agua destilada. Destilar y recoger 5 ml de destilado en 5 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M.

Tomar 0,5 ml de este destilado y añadir 18,0 ml de agua destilada y 1 ml de una solución de nitrato de plomo de 1 g por litro (R). La coloración marrón obtenida debe ser inferior a la del testigo preparado añadiendo a 0,5 ml de una solución de ácido sulfúrico de 10 mg de azufre por litro (R), 18 ml de agua destilada y 1 ml de una solución de nitrato de plomo de 1 g por litro (R). (Contenido en sulfuros expresado en azufre, inferior a 100 mg/kg).

5.7 Cianuros

En un matraz aforado de 40 ml que contenga 25 ml de agua destilada y 2,5 ml solución tampón de pH 7,5 (R), introducir 40 mg de hexacianoferrato(II) de potasio. Después de disolución, añadir inmediatamente 0,3 ml de solución de cloramina T al 0,1 p. 100 (R). Esperar 90 segundos y añadir 6 ml de reactivo piridino-pirazolona (R).

Completar a 40 ml con agua destilada y mezclar. La coloración obtenida no debe ser más intensa que la que se desarrolla tratando de la misma manera 4 ml de una solución, recientemente preparada, de cianuro de potasio de 1 mg de ácido cianhídrico por litro. Contenido en cianuros libres, expresados en ácido cianhídrico, inferior a 100 mg/kg).

5.8 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

5.9 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

5.10 Arsénico

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (hexacianoferrato(II) de)

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

5.11 Amoniaco

En el matraz de fondo redondo de un aparato de destilación, colocar 2 g de hexacianoferrato(II) de potasio, 25 ml de agua destilada y 5 ml de hidróxido de sodio al 30 p. 100 (R). Destilar y recoger 20 ml de destilado en 40 ml de ácido bórico al 4 p. 100 (R) en presencia de rojo de metilo; 1,2 ml de solución de ácido clorhídrico 0,1 M deben ser suficientes para hacer virar el indicador (contenido en amoniaco inferior a 100 mg/kg).

6. CONSERVACIÓN

El hexacianoferrato(II) de potasio debe ser conservado en sacos herméticos al abrigo de la humedad.

POTASIO (HIDROGENOCARBONATO DE)
Bicarbonate de potassium
 $\text{KHCO}_3 = 100,1$
(Oeno 37/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto empleado para la desacidificación de los mostos y de los vinos. El aporte de iones potasio provoca la salificación del ácido tartárico libre con formación de hidrogenotartrato de potasio.

La utilización de este producto está reglamentada.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe indicar la pureza, así como las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Dióxido de Carbono	43,97
Potasio	39,06

4. CARACTERÍSTICAS

El hidrogenocarbonato de potasio se presenta bajo forma de un polvo blanco, inodoro ligeramente hidrocópico. Da las reacciones de los carbonatos.

5. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C 600 g/l
Alcohol a 95% vol. Insoluble
Soluble con efervescencia en las soluciones de ácidos diluidos (acético, clorhídrico ...)

6. ENSAYOS

6.1 Pérdida por desecación

Después de 4 horas de desecación en una estufa a 105°C, la pérdida de peso no debe ser superior a 2 p. 100.

6.2 Preparación de la solución para los ensayos

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (bicarbonato)

Colocar 10 g de hidrogenocarbonato de potasio en un matraz aforado de 100 ml y completar con agua.

6.3 Materias insolubles en agua

Filtrar la solución preparada para ensayos (6.2). El residuo secado a 105°C y calcinado a 550°C no debe ser superior a 0,1 g (es decir 1 p. 100).

6.4 Hierro

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.2), medir el hierro por espectrofotometría de absorción atómica que figura en el "Recueil". (Contenido en hierro inferior a 100 mg/kg).

6.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

6.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.2) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1 mg/kg).

6.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.2) utilizar el método descrito en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

6.8 Sodio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.2) determinar el sodio por fotometría de llama. (Contenido en sodio inferior a 1 p. 100).

6.9 Contenido en hidrogenocarbonato de potasio

Disolver en 50 ml de solución de ácido clorhídrico 1 M una alícuota exactamente pesada cercana a 2 g. Valorar el ácido clorhídrico en exceso con ayuda de una solución de hidróxido de sodio 1 M en presencia de rojo de metilo (R).

El producto enológico debe contener, al menos, 98 p. 100 de hidrogenocarbonato de potasio.

7. CONSERVACIÓN

El hidrogenocarbonato de potasio debe ser conservado en sacos herméticos al abrigo de la humedad.

POTASIO (HIDROGENOSULFITO)
Bisulfito de potasio
 $\text{KHCO}_3 = 120,2$
Nº SIN: 228
(Oeno 38/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El hidrogenosulfito de potasio se utiliza en razón a la cantidad de dióxido de azufre que contiene.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe indicar el peso de dióxido de azufre por litro o por kilogramo y las condiciones de conservación y seguridad.

Existen límites reglamentarios en cuanto al contenido en dióxido de azufre en los vinos.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

SO ₂	53,30
K	32,53

4. CARACTERÍSTICAS

Se presente bajo forma de solución incolora o muy ligeramente amarillenta, obtenida por el paso de una corriente de dióxido de azufre a través de una solución acuosa de hidróxido de potasio.

Las soluciones de hidrogenosulfito de potasio utilizadas en enología contienen, normalmente, de 281 a 375 g/l de hidrogenosulfito de potasio, lo que corresponde de 150 a 200 g/l de dióxido de azufre.

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

La solución de hidrogenosulfito de potasio da las reacciones del ión potasio y del dióxido de azufre y son ligeramente ácidas. (pH cercano a 5).

6. ENSAYOS

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (hidrogenosulfito de)

Los ensayos son idénticos a los que figuran en la monografía del anhidosulfito de potasio, así como los contenidos límites para el plomo, el mercurio, el hierro, el arsénico, el selenio, el sodio y los cloruros.

7. CUANTIFICACIÓN

En un matraz cónico de 200 ml colocar 50 ml de agua fría y añadir 5 ml de la solución de hidrogenosulfito de potasio, diluir con el fin de tener una solución de, aproximadamente, 1 p. 100 de SO₂ y valorar con yodo 0,1 M en presencia de engrudo de almidón.

Sea **n** ml el volumen de yodo utilizado.

El contenido en dióxido de azufre (SO₂) de la solución expresado en p. 100 (m/v) es de:

$$0,64 \cdot n$$

(El contenido no puede ser inferior a 150 g/l).

8. CONSERVACIÓN

Las soluciones de hidrogenosulfito de potasio que contengan mas de 15 p. 100 (m/v) de dióxido de azufre no deben ser conservadas a baja temperatura para evitar cualquier riesgo de cristalización.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (bitartrato de)

POTASIO (HIDROGENOTARTRATO DE)
Potasio (L-2,3-dihidroxi-hidrogenobutanodioato de)
Tartrato monopotásico
Bitartrato de Potasio
COOH – CHOH – CHOH – COOK = 187,3
N° SIN: 336 i
(Oeno 39/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

La adición de hidrogenotartrato de potasio comúnmente llamado bitartrato de potasio favorece la cristalización de las sales del ácido tartárico a la hora del tratamiento del vino por frío.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto, su granulometría y las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Se trata de la sal monopotásica anhidra del ácido L(+)-tartárico C₄H₅O₆K. Se presenta bajo forma de cristales blancos o de polvo granulado blanco de sabor ligeramente ácido.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	15,2 g/l
Agua a 100°C	61 g/l

Insoluble en alcohol

5. ENSAYOS

5.1 Pérdida por desecación (materias volátiles)

Después de 4 horas de desecación en estufa a 105°C, la pérdida de peso no debe ser superior a 1 p. 100.

5.2 Preparación de la solución para los ensayos

En un matraz aforado de 100 ml colocar 100 g de hidrogenotartrato de potasio, 50 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. Agitar y enrasar con agua.

Sobre esta solución efectuar los mismos ensayos que los que figuran en la monografía del ácido L(+)-tartárico, con excepción de los cloruros y aplicar los mismos límites.

5.3 Sodio

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2), medir el contenido de sodio por fotometría de llama, de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en sodio inferior a 1 p. 100).

5.4 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para ensayos (5.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) , 2 ml de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 1 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 10 mg/kg)

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

5.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

5.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

5.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

5.8 Oxalato

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.2) medir el oxalato de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido expresado en ácido oxálico inferior a 100 mg/kg).

6. CONSERVACIÓN

El hidrogenotartrato de potasio debe ser conservado en un recipiente herméticamente

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (L(+)-tartrato de)

POTASIO (L(+)-TARTRATO DE)
Potasio (L-2,3-dihidroxibutanodioato de)
Tartrato dipotásico
Tartrato neutro de potasio
COOK - CHOH - CHOH - COOK, (H₂O)_{1/2} = 235,3
N° SIN: 336 ii
(Oeno 41/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

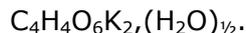
El L-tartrato dipotásico se destina a la desacidificación de los mostos y de los vinos. Su empleo está sometido a restricciones reglamentarias en vigor en determinados países.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto (superior o igual a 99 p. 100 del producto sobre materia seca), las condiciones de seguridad y conservación y el hecho de que la desacidificación de los vinos está sometida a determinadas condiciones.

3. CARACTERÍSTICAS

Se trata de la sal dipotásica del ácido L-tartárico (poder rotatorio positivo algunas veces escrito como L(+)-tartárico), cristaliza con media molécula de agua:



Se presenta bajo forma de cristales blancos o de polvo granulado blanco.

Es muy soluble en agua.

4. ENSAYOS

4.1 Pérdida por desecación (materias volátiles)

Después de 4 horas de desecación en estufa a 105°C, la pérdida de peso no debe ser superior a 4 p. 100.

4.2 Preparación de la solución para los ensayos

En un matraz aforado de 100 ml colocar 10 g de tartrato neutro de potasio y enrasar con agua.

Sobre esta solución efectuar los mismos ensayos que los que figuran en la monografía del ácido L(+)-tartárico, y aplicar los mismos límites.

4.3 Sodio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2), medir el sodio por fotometría de llama, de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en sodio inferior a 1 p. 100).

4.4 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para ensayos (4.2), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) , 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R).

Si aparece una coloración roja deberá ser inferior a la de una solución testigo preparada con 1 ml de solución de hierro(III) de 0,01 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos (contenido de hierro inferior a 10 mg/kg)

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica, de acuerdo con el método del "Recueil".

4.5 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

4.6 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

4.7 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

4.8 Distinción con el racemato de potasio

En un tubo de ensayo, colocar 10 ml de agua, 1 ml de solución preparada para los ensayos (4.2), 1 ml de ácido acético cristalizante (R) y 2 ml de solución de acetato de calcio al 25 p. 100 (R), no se debe producir, instantáneamente, un precipitado blanco cristalino.

4.9 Oxalato

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.2) medir el oxalato de acuerdo con el método indicado en el anexo. Contenido

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (L(+)-tartrato de)

expresado en ácido oxálico inferior a 100 mg/kg después de desecación.

5. CONSERVACIÓN

El tartrato de potasio debe ser conservado en un recipiente herméticamente cerrado.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (sorbato de)

POTASIO (SORBATO DE)
Potasio(hexa-2,4-dienoato de)
Kalii sorbas
CH₃ - CH = CH-CH = CH - COOK
C₆H₇O₂K = 150,2
N° SIN: 202
(Oeno 40/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

El sorbato de potasio es un agente conservante, libera 75 p. 100 de ácido sórbico cuyas propiedades antifúngicas inhiben el desarrollo de las levaduras. Su empleo está limitado. El ácido sórbico no es bactericida, es metabolizado por ciertas bacterias y proporciona un sabor a "geranio" característico.

Por esta razón, su presencia en los vinos, no permite suprimir el SO₂.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto, su contenido en ácido sórbico y las condiciones de seguridad y conservación.

3. COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Ácido sórbico	74,64
Potasio	26,03

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	muy soluble
Alcohol a 95% vol.	poco soluble (≅14 g/l)
Éter etílico	Insoluble

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 5.1** Polvo blanco o granulado soluble en agua, solución neutra a la fenoftaleína (R), alcalina al rojo de metilo (R).
- 5.2** Agitar 20 mg de sorbato de potasio con 1 ml de agua de bromo (R) y 1 gota de ácido acético (R). El color debe desaparecer.
- 5.3** Una solución conteniendo 5 mg de sorbato de potasio por litro de agua, presenta una banda de absorción a 256 nm.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (sorbato de)

5.4 La solución acuosa al 10 p. 100 precipita con los ácidos y presenta las características del potasio.

6. ENSAYOS

6.1 Solubilidad

Verificar la solubilidad completa en agua y alcohol.

6.2 Pérdida por desecación

1 g de sorbato de potasio colocado en una estufa a 150°C no debe perder más de 1 p. 100 de su peso al cabo de 3 horas.

6.3 Preparación de la solución para los ensayos

En un matraz aforado de 50 ml, disolver 1 g de sorbato potásico en 40 ml de agua, añadir 0,5 ml de ácido nítrico concentrado (R), enrasar y filtrar.

6.4 Cloruros

A 2,5 ml de solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 17 ml de agua, 0,5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100 (R). Si se produce una opalescencia ésta debe ser inferior a la de una solución testigo preparada como está indicada en el anexo. (Contenido en cloruros expresado en ácido clorhídrico inferior a 1 g/kg).

6.5 Sulfatos

A 5 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (m/v) (R) 14 ml de agua y 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida, y la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la presentada por un testigo preparado según está indicado en el anexo. (Contenido en sulfatos expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg).

6.6 Metales pesados

Disolver 1 g de sorbato potásico en 15 ml de agua; añadir 2 ml de solución tampón de pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (R). La mezcla debe permanecer incolora o ser menos coloreada que la solución de 1 g del mismo sorbato de potasio en 15 ml de agua. Si hay un aumento del color, este debe ser, como mucho, igual al de la solución testigo conteniendo 20 µg de plomo. Para esta comparación utilizar el mismo dispositivo que

el descrito para el ácido sórbico. (Contenido en metales pesados expresados en plomo inferior a 10 mg/kg).

6.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

6.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) valorar el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

6.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) valorar el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

6.10 Determinación de aldehídos

A 2,5 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3) añadir 0,5 ml de ácido nítrico diluido al 10 p. 100 (R), 17 ml de agua, tratar 1 ml de esta solución con 0,5 ml de solución de fucsina decolorada por el ácido sulfuroso (R) y comparar, después de 15 minutos, con la solución de un tubo testigo, obtenida con 0,5 ml del mismo reactivo y 1 ml de formaldehído en solución de 20 µg por mililitro. La coloración deberá ser menos intensa que la del testigo. (Contenido en aldehidos, expresados en formaldehído, inferior a 1 g/kg).

6.11 Cuantificación

Esta medida se debe realizar con el producto a analizar, previamente desecado en un desecador con ácido sulfúrico durante 24 horas.

Introducir un peso **p** (g) del producto desecado, cercano a 0,2 g en un borboteador de un aparato de arrastre de vapor, con 1 g de ácido tartárico y 10 ml de agua. Destilar, al menos 250 ml (hasta que el vapor no arrastre más ácido). Valorar con solución de hidróxido de sodio 0,1 M el ácido destilado: sea **n** el número de mililitros añadidos. 1 ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 M corresponde a 0,01502 g de sorbato de potasio.

Contenido p. 100 de sorbato de potasio en el producto analizado:

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Potasio (sorbato de)

1,502.n

p

El sorbato de potasio analizado debe ser, al menos, del 98 p. 100 expresado en producto seco.

7. CONSERVACIÓN

El sorbato de potasio se debe conservar en recipientes herméticos al abrigo de la luz, con el fin de retrasar su oxidación.

PREPARACIONES ENZIMATICAS
(Oeno 14/2003)

Las prescripciones formuladas a continuación conciernen todas las preparaciones enzimáticas susceptibles de ser utilizadas en el curso de las distintas operaciones que pueden aplicarse a las uvas y a sus derivados.

Las mismas se basan en las recomendaciones emitidas por el "*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 35th Session, Rome 29 May - 7 June 1989*" y publicadas en 1990 en el *FAO Food and Nutrition Paper n° 49 "Specifications for identity and purity of certain food additives. General specifications for enzyme preparations used in Food Processing"*.

1. GENERALIDADES

Las preparaciones enzimáticas pueden ser elaboradas a partir de microorganismos o de tejidos de animales o vegetales.

Cuando se trata de buscar una sinergia entre diversas actividades enzimáticas, tales como las pectinasas, las celulasas y las hemicelulasas, pueden realizarse mezclas de preparaciones derivadas de fuentes diferentes. Estas preparaciones pueden contener uno o varios componentes activos, así como soportes, diluyentes, agentes de conservación, antioxidantes u otras sustancias compatibles con las buenas prácticas de fabricación y de acuerdo con la reglamentación. Ellas pueden, en ciertos casos, contener células o fragmentos de células. Por otra parte, ellas pueden presentarse bajo aspecto sólido o líquido. Las sustancias activas pueden igualmente ser inmovilizadas sobre soporte admitido para los productos enológicos; la utilización de glicerol no es permitida en ciertos países.

2. ETIQUETADO

El etiquetado de las preparaciones enzimáticas admitidas debe precisar las condiciones de conservación, los aditivos, el número de lote la naturaleza de las actividades enzimáticas y la fecha límite de utilización. Indicación de la obtención por modificación genética de las preparaciones enzimáticas, si es el caso.

3. PREPARACIONES ENZIMATICAS ADMITIDAS

Todas las preparaciones enzimáticas que presenten un interés tecnológico debidamente probado en la práctica y que cumplan plenamente con las condiciones y los criterios aquí arriba mencionados, son admitidas para el tratamiento de las uvas y de sus derivados.

Las preparaciones enzimáticas utilizadas no deben contener ni substancia, ni microorganismo o actividad enzimática que puedan:

- ser nocivos para la salud;
- afectar negativamente la calidad de los productos elaborados;
- conducir a la formación de productos indeseables;
- ocasionar o facilitar un fraude.

4. ACTIVIDADES ENZIMATICAS

4.1 Generalidades

Las preparaciones enzimáticas contienen numerosas actividades enzimáticas. Fuera de las actividades enzimáticas principales, cuyo interés tecnológico ha sido debidamente probado, las actividades enzimáticas llamadas secundarias no son toleradas más allá de los límites de las restricciones tecnológicas de producción de las preparaciones enzimáticas y deben ser reducidas al mínimo posible. De una manera general, la suma de todas las actividades secundarias no debe ser superior a un 50% de la suma de las actividades necesarias para la función deseada. Las actividades son expresadas en nKat. (nKat = 1 nmole de sustrato transformado o de producto formado por segundo y por g de preparación).

Las actividades secundarias superiores a un 10% de la actividad principal deben ser declaradas en las características técnicas del producto comercial.

Las actividades enzimáticas contenidas en una preparación y que responden a la necesidad tecnológica mencionada, son indicadas en unidades de actividad por unidad de masa de la preparación. Estas unidades representan la actividad enzimática sobre la cual la preparación es estandarizada.

4.2 Medida de las actividades

Las actividades enzimáticas presentadas son dosificadas en las condiciones del vino, las incubaciones son realizadas a 25 °C durante 20 min.

Las condiciones de medición de actividades corresponden a la medida de la velocidad inicial de reacción.

Para cada medición, los valores obtenidos con cada preparación desactivada por ebullición (valor del blanco enzimático) deben ser deducidos de las mediciones hechas con las enzimas activas. Realizar las mediciones en doble ejemplar. Los resultados son expresados en nanokatales.

En la medida en que la transformación tecnológica buscada resulte de la acción de diferentes enzimas en el seno de una misma preparación, habrá que esforzarse en medir específicamente cada una de estas actividades enzimáticas, que serán objeto de fichas particulares, en las cuales serán precisados los modos de medición de estas actividades.

Deben buscarse e identificarse las actividades indeseables parciales.

5. FUENTES DE ENZIMAS Y MEDIOS DE PRODUCCION

Las fuentes microbianas de enzimas deben ser no patógenas, no toxicógenas y genéticamente estables y los medios de fermentación no deben dejar residuos nocivos para la salud en las preparaciones enzimáticas. En el caso de los microorganismos, un estudio de seguridad deberá ser realizado con el fin de asegurarse de que una preparación enzimática producida por una especie dada de microorganismo (ej. *Aspergillus niger*) no presenta riesgos para la salud. Este estudio puede ser realizado basándose en los principios enunciados en las líneas directivas para las enzimas alimentarias publicadas por el Comité Científico de la Alimentación humana (CSAH), u otros organismos equivalentes.

Las técnicas utilizadas deben ser compatibles con las buenas prácticas de fabricación y las prescripciones del Codex enológico internacional si se utilizan levaduras y/o bacterias lácticas.

Los tejidos animales utilizados para la preparación de enzimas deben ser compatibles con las exigencias fijadas por las instancias oficiales de control. Los mismos deben ser tratados de acuerdo con las buenas prácticas de higiene y de fabricación.

6. SOPORTES, DILUYENTES, AGENTES DE CONSERVACION U OTROS ADITIVOS

Las preparaciones enzimáticas pueden ser diluidas sólo en sustancias conformes a la reglamentación en vigor en los diferentes países para el tratamiento de las uvas y de sus derivados.

En el caso de enzimas inmovilizadas, los soportes utilizados deben responder a las normas sobre los materiales que entran en contacto con los productos alimentarios. Para este último tipo de preparación, el

contenido de los componentes del soporte utilizado, susceptibles de ser transmitidos al mosto o al vino, deberá ser determinado e indicado en la etiqueta de la preparación enzimática.

La presencia de agentes de conservación será admitida solamente para las preparaciones comercializadas bajo forma líquida. Sólo los agentes de conservación autorizados en la producción de vinos son aceptados y sus contenidos deben ser mencionados en la etiqueta de la preparación enzimática.

7. HIGIENE

Las preparaciones enzimáticas deben ser producidas de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación y no deben ocasionar un aumento significativo del contenido en gérmenes de los productos tratados.

8. LIMITES Y METODOS DE ENSAYO

8.1 Metales pesados

Proceder a la dosificación según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 30 mg/kg.

8.2 Plomo

Proceder a la dosificación según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 5 mg/kg.

8.3 Mercurio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 0,5 mg/kg.

8.4 Arsénico

Proceder a la dosificación según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 3 mg/kg.

8.5. Cadmio

Proceder a la dosificación según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 0,5 mg/kg

8.6 Salmonelas

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 25 g.

8.7 Coliformes

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 30 UFC/g de preparación.

8.8 *Escherichia coli*

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Ausencia controlada sobre una muestra de 1 g.

8.9 Gérmenes totales

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 10^4 UFC/g de preparación.

8.10 Levaduras

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 10^3 UFC/g de preparación.

8.11 Bacterias lácticas

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 10^3 UFC/g de preparación.

8.12 Bacterias acéticas

Proceder al recuento según el método que figura en el capítulo II del Codex enológico internacional.

Contenido inferior a 10^2 UFC/g de producto comercial.

Las preparaciones enzimáticas no deben contener actividad antibiótica ni cantidades detectables de aflatoxinas ($4 \mu\text{g}/\text{kg}$)*, de ocratoxina A ($3 \mu\text{g}/\text{kg}$), de esterigmacistina*, de de toxinas T* - 2 ($5 \mu\text{g}/\text{g}$) o de zearalenones* ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$).

*Según los métodos que serán determinados ulteriormente

9. FICHA TECNICA A PRESENTAR OBLIGATORIAMENTE POR EL FABRICANTE

Cada tipo de preparación enzimática debe ser definida por medio de una ficha técnica. La misma debe contener al menos las informaciones siguientes:

- Naturaleza de la preparación (por ejemplo enzimas pectolíticas);
- Origen (por ejemplo *Aspergillus niger*);
- Campos y modalidades de aplicación;
- Actividad y estabilidad de la preparación con fecha límite de utilización garantizando la actividad y las condiciones de conservación (temperatura)
- Tipos de reacción catalizadas por las actividades enzimáticas principales;
- Actividades enzimáticas principales con n° IUB (por ejemplo Tannase 3.1.1.20);
- Actividades enzimáticas secundarias con, si es posible, n° IUB; y su actividad en porcentaje de la actividad principal.
- Tipos de soportes, de diluyentes, de agentes de conservación o de aditivos utilizados, así como sus contenidos;
- Si la preparación enzimática es derivada de organismos genéticamente modificados o no;
- Una mención que permita identificar el lote.

PARA CADA ENZIMA SE PROPONDRAN COMPLEMENTOS DE INFORMACION.

RESINAS INTERCAMBIADORAS DE CATIONES
(Oeno 43/2000)

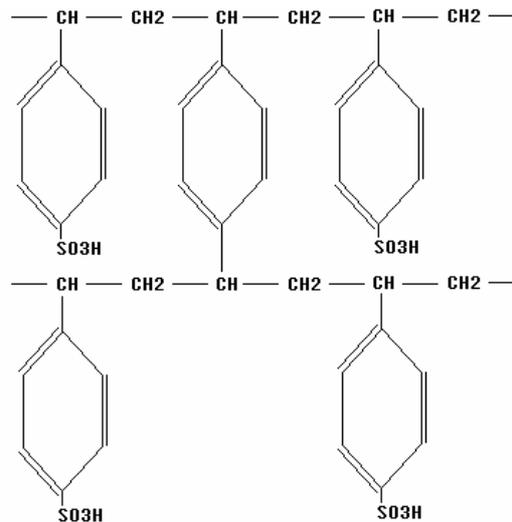
1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

El intercambio de iones es el intercambio reversible de iones entre un líquido y un sólido, en el transcurso del cual el sólido no experimenta cambios sustanciales. Cuando se aplica esta tecnología al vino, el sólido es una resina sintética insoluble, permeable, que puede intercambiar iones con el vino con el cual ella está en contacto. Las resinas son utilizadas para la estabilización tártrica de los vinos.

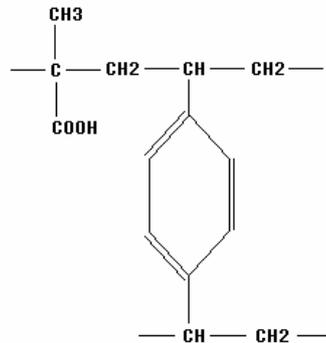
2 COMPOSICION

Las resinas intercambiadoras de cationes pueden ser preparadas bajo una forma física apropiada utilizando una o varias de las siguientes fórmulas.

1. Copolímero sulfonado de estireno y de divinilbenceno:



2. Copolímero de divinilbenceno y de ácido metacrílico:



La inercia de las resinas debe ser satisfecha.

Las sustancias que pueden ser utilizadas en la fabricación de estas resinas son indicadas en los Anexos 1 y 2.

La resina no deberá contener más de 1 mg de sustancias orgánicas extractivas por kg. Estos extractos orgánicos se obtienen con cada uno de los solventes siguientes: (a) agua destilada, (b) alcohol a 15 % vol., (c) solución de ácido acético a 3 % (m/m).

La resina será lavada y acondicionada según las instrucciones del fabricante.

Preparar diferentes columnas intercambiadoras de iones separadas para cada solvente, utilizando 50 ml de resina, de la cual se habrá determinado el peso.

Manteniendo siempre la temperatura máxima que podrá alcanzarse en el momento de la utilización, pasar a través de las resinas, a un caudal de 350 - 450 ml por hora respectivamente, los tres solventes de análisis: el agua destilada, la solución hidroalcohólica a 15 % vol. y la solución de ácido acético a 3 p.100 (m/m).

El primer litro de efluente de cada solvente no es tomado en cuenta, solamente los dos litros siguientes de cada solvente son utilizados para determinar los extractos orgánicos.

Extracto total : La muestra de dos litros es evaporada a 105°C hasta peso constante.

Cenizas :El residuo seco de la evaporación de los 2 l de efluente es luego calcinada en un horno a 850°C hasta la obtención de un peso constante.

Extracto orgánico :El extracto total menos las cenizas da el extracto orgánico ; si el mismo es superior a 1 ml/l del solvente utilizado, un « blanco » deberá ser efectuado sobre el solvente, y una corrección deberá ser realizada por la sustracción del extracto orgánico encontrado en el « blanco » de aquel obtenido en el test de resina. Los solventes utilizados son preparados como sigue:

Reactivos de control

Agua destilada y/o desionizada.

Alcohol etílico a 15 % vol obtenido a partir de alcohol etílico absoluto y de agua destilada y/o desionizada.

Acido acético a 3 % realizado por una mezcla de 3 partes, en masa, de ácido acético con 97 partes en masa de agua destilada y/o desionizada.

3. LIMITES

- El tratamiento no debe cambiar el carácter del vino.
- El tratamiento no debe disminuir el color del vino.
- El tratamiento no debe disminuir la concentración de cationes metálicos en el vino por debajo de 300 mg/l.
- El tratamiento no debe hacer bajar el pH del vino a menos de 3,0. La disminución del pH no debe exceder 0,3 unidades pH.
- La resina no debe transmitir al vino materias o características (debidas al tratamiento de la resina) que normalmente no existen en el vino.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Resinas intercambiadoras de cationes

El operador puede utilizar agentes acondicionantes y/o regenerantes compuestos de agua y de ácidos inorgánicos, bases o sales a condición de que la resina acondicionada o regenerada sea enjuagada con agua hasta la eliminación completa de los agentes acondicionantes o regenerantes, antes de la introducción del vino.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Resinas intercambiadoras de cationes

Anexo 1

Substancias utilizables en la fabricación de resinas intercambiadoras de cationes destinadas al acondicionamiento de productos alimentarios.

Lista 1

Substancias evaluadas por un organismo internacional

NOMBRE	PM/REF	CASO	RESTRICCIONES
Monomères et autres substances de départ			
Acrylate de n-butyle	10780	00141-32-2	-
Acrylate d'éthyle	11470	00140-88-5	-
Acrylate de méthyle	11710	00096-33-3	-
Acrylonitrile	12100	00107-13-1	LMS = non décelable (LD = 0,02 mg/kg)
Formaldéhyde	17260	00050-00-0	LMS = 15 mg/kg
Méthacrylate de méthyle	21130	00080-62-6	-
Méthanol	21550	00067-56-1	-
Styrène	24610	00100-42-5	-
Modificateurs chimiques			
Acide carbonique, sels	42500	-	-
Acide chlorhydrique	59990	07647-01-0	-
Acide phosphorique	72640	07664-38-2	-
Acide silicique, sels	85980	-	-
Acide sulfurique	91920	07664-93-9	-
Anhydride acétique	10150	00108-24-7	-
tert-Butyl-4-hydroxyanisole (=BHA)	40720	25013-16-5	LMS = 30 mg/kg
Diéthylènetriamine	15790	00111-40-0	LMS = 5 mg/kg
Diméthylamine	49225	00124-40-3	LMS = 0,06 mg/kg
2-(Diméthylamino)éthanol	49235	00108-01-0	LMS = 18 mg/kg
Formaldéhyde	54880	00050-00-0	LMS = 15 mg/kg
Hexaméthylènediamine	18460	00124-09-4	LMS = 2,4 mg/kg
Hydroxyde de potassium	81600	01310-58-3	-
Hydroxyde de sodium	86720	01310-73-2	-
Nitrite de sodium	86920	07632-00-0	LMS = 0,6 mg/kg
Oxyde d'éthylène	17020	00075-21-8	QM = 1 mg/kg de PF
2-Propanol	81882	00067-63-0	-
Adjuvants de polymérisation			
Acides alkylsulfoniques (C ₈ -C ₂₂)	34230	-	LMS = 6 mg/kg
Acides alkylsulfuriques-(C ₈ -C ₂₂), linéaires, primaires, à nombre pair d'atomes de carbone	34281	-	-
Acide formique	55040	00064-18-6	-
Carboxyméthylcellulose	42640	09000-11-7	-
Chlorure d'étain (IV)	93420	07646-78-8	-
Chlorure de méthylène	66620	00075-09-2	LMS = 0,05 mg/kg
1,4-Dihydroxybenzène	48620	00123-31-9	LMS = 0,6 mg/kg
Gélatine	55440	09000-70-8	-

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Resinas intercambiadoras de cationes

Hydroxyde d'ammonium	35600	01336-21-6	-
Hydroxyde de magnésium	64640	01309-42-8	-
Hydroxyéthylcellulose	60560	09004-62-0	-
Hydroxéthylméthylcellulose	60880	09032-42-2	-
Méthanol	65960	00067-56-1	-
Méthylcarboxyméthylcellulose	66200	37206-01-2	-
Méthylisobutylcétone	66725	00108-10-1	LMS = 5 mg/kg
Toluène	93540	00108-88-3	LMS = 1,2 mg/kg

Anexo 2

Substancias provisoriamente utilizables en la fabricación de las resinas intercambiadoras de cationes.

Lista 2

1. Substancias no evaluadas completamente por un organismo internacional

NOMBRE	PMEF	CASO	RESTRICCIONES
Monomères et autres substances de départ			
Diméthacrylate d'éthylèneglycol	20440	00097-90-5	-
Divinylbenzène	16690	01321-74-0	-
Ether diallylique du 1, 1, 1 -triméthylolpropane	25645	00682-09-7	-
Méthacrylate de 2,3-époxypropyle	20590	00106-91-2	-
2-Méthyl- 1,3-butadiène	21640	00078-79-5	-
1,7-Octadiène	22585	03710-30-3	-
Triméthacrylate du 1, 1, 1 -triméthylolpropane	25840	03290-92-4	-
Modificateurs chimiques			
N,N-Diméthyl- 1,3-diaminopropane	49380	00109-55-7	-
Triéthylamine	94270	00121-44-8	-
Triéthylènetétramine	25520	00112-24-3	-
Adjuvants de polymérisation			
Alcools polyvinyliques	81280	09002-89-5	-
4-tert-Butylcatéchol	40640	00098-29-3	-
Diisobutylcétone	49050	00108-83-8	-
Hypochlorite de sodium	62110	07681-52-9	-
Isobutanol	62270	00078-83-1	-
4-Méthoxyphénol	66030	00150-76-5	-
Méthylène bis (naphtalènesulfonate de sodium)	66600	26545-58-4	-
4-Méthyl-2-pentanol	66860	00108-11-2	-
Peroxyde de dibenzoyl	46440	00094-36-0	-
Polyacétate de vinyle partiellement hydrolysé	81260	-	-

2. Substancias no evaluadas por un organismo internacional

NOMBRE	PM/REF	CASO	RESTRICCIONES
=====			

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Resinas intercambiadoras de cationes

Monomères et autres substances de départ

Diméthoxyméthane	-	00109-87-5	-
Ether divinylque du diéthylèneglycol	-	00764-99-8	-
Ethylvinylbenzène	-	28106-30-1	-
1,2,4-Trivinyleyclohexane	-	02855-27-8	-

Modificateurs chimiques

Acide chlorosulfonique	-	07790-94-5	-
Acide monochloroacétique	-	00079-11-8	-
Acide phosphoreux	-	13598-36-2	-
Brome	-	07726-95-6	-
2-Chloroéthanol	-	00107-07-3	-
Chlorure de méthyle	-	00074-87-3	-
1,2-Dichloroéthane	-	00107-06-2	-
1,2-Dichloropropane	-	00078-87-5	-
3-(Diméthylamino)propanol	-	03179-63-3	-
Ether chlorométhyl-méthylque	-	00107-30-2	-
Nitrobenzène	-	00098-95-3	-
Nitrite de potassium	-	07758-09-0	-
Phthalimide	-	00085-41-6	-
Trioxyde de soufre	-	07446-11-9	-
Triméthylamine	-	00075-50-3	-

2. Substancias no evaluadas por un organismo internacional

NOMBRE	PM/REF	CASO	RESTRICCIONES
Adjuvants de polymérisation			
Acide lignosulfonique	63940	08062-15-5	-
Acide peracétique	-	00079-21-0	-
Acide polyacrylique	76460	09003-01-4	-
Acide poly(styrènesulfonique), sel de sodium	-	09080-79-9	-
Acrylamide - acide acrylique, copolymère	-	09003-06-9	-
tert-Alkylamines (C ₂ -Cl ₄), ethoxylées, propoxylées	-	68603-58-7	-
Anhydride maléique-styrène, copolymère, sel d'ammonium	-	26022-09-3	-
Attapulgite	-	12174-11-7	-
Azobisisobutyronitrile	-	00078-67-1	-
1J Bis (tert-butylperoxy)-3,3,5-triméthylcyclohexane	-	06731-36-8	-
n-Dodécyl mercaptan	-	00112-55-0	-
-			
tert-Dodécyl mercaptan	-	25103-58-6	-
-			
Ether monobutylique du poly(éthylène/propylène)	-	09038-95-3	-
-			
glycol			
Ether octylphénylique du polyéthylèneglycol	78560	09002-93-1	-
-			
Ether du poly(éthylène/propylène)glycol	-	52624-57-4	-
-			
avec le 1, 1, 1 -triméthylolpropane			
tert-Hexadécyl mercaptan	-	25360-09-2	-
-			

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Resinas intercambiadoras de cationes

Hydropéroxyde de cumyle	-	00080-15-9
-		
Isododécane	62405	31807-55-3
-		
Isooctane	-	26635-64-3
-		
Mono- et dialkyl (C ₁₀ -C ₁₈) sulfonamides	-	-
Nitrate d'argent	-	07761-88-8
-		
n-Octane	-	00111-65-9
-		
Peracétate de tert-butyle	-	00107-71-1
-		
Perbenzoate de tert-butyle	-	00614-45-9
-		
Percarbonate de bis (4-tert-butylcyclohexytle)	-	15520-11-3
-		
Per(2-éthylhexanoate) de tert-butyle	-	03006-82-4
-		
Peroctanoate de tert-butyle	-	134,67-82-8
-		
Peroxyde de dilauroyle	-	00105-74-8
-		
Poly(chlorure de diallyldiméthylammonium)	-	26062-79-3
-		
Polyvinylpyrrolidone	81500	09003-39-8
-		

=====

SOLUCIÓN COLOIDAL DE DIÓXIDO DE SILICIO
Silica colloidalis solutio
GEL DE SÍLICE EN DISPERSIÓN ACUOSA
(Oeno 44/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Las soluciones coloidales de dióxido de silicio son las dispersiones acuosas de partículas de dióxido de silicio hidrolizadas en superficie y que están cargadas negativamente.

Estas preparaciones se utilizan para la clarificación de los vinos, y están asociadas a los clarificantes de naturaleza proteica.

2. ETIQUETADO

El etiquetado debe mencionar la concentración de dióxido de silicio y las condiciones de seguridad y de conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Según su forma de preparación, se obtienen soluciones ácidas o alcalinas conteniendo iones sodio expresados en Na₂O; los más utilizados son las soluciones alcalinas.

Las soluciones coloidales de sílice están exentas de todo compuesto orgánico.

Su concentración, determinada por desecación a 110°C, es siempre superior o igual a 15 p. 100 (m/m), lo más frecuente es que se encuentre comprendida entre 15 y 30,7.

La masa colúmica a 20°C, $\rho_{20^\circ\text{C}}$, de las soluciones coloidales de dióxido de silicio viene dada en función de la concentración C (m/m) por la relación:

$$\rho_{20^\circ\text{C}} = \rho_{20^\circ\text{C}}(\text{agua}) \cdot \frac{1}{1 - 0,0056 \cdot C}$$

$$\rho_{20^\circ\text{C}}(\text{agua}) = \text{masa volúmica de agua a } 20^\circ\text{C} = 0,998203.$$

Estas preparaciones se presentan bajo la forma de líquidos opalescentes o lechosos con reflejos ligeramente azulados eventualmente bajo la forma de gel.

4. ENSAYOS

4.1 La solución debe ser sin olor o sabor desagradable.

4.2 **PH**

Según el modo de obtención, según se obtengan soluciones ácidas y alcalinas, debe estar comprendido entre 3 y 4 o entre 8 y 10,5.

4.3 **Concentración de dióxido de silicio (Extracto seco a 110°C)**

El peso de residuo seco P expresado en g por 100 g de producto debe corresponderse con $\pm 0,5$ de concentración del producto.

4.4 **Alcalinidad**

Para las soluciones coloidales alcalinas, determinar la alcalinidad sobre una muestra de ensayo de 5 g con ácido clorhídrico 0,1 M (R) en presencia de 2 gotas de naranja de metilo (R). La alcalinidad expresada en Na₂O por 100 g de producto debe ser inferior a P/100.

4.5 **Preparación de la solución para los ensayos**

Un volumen de solución coloidal de sílice correspondiente a 10 g de extracto seco se coloca en una cápsula de platino de 7 cm de diámetro y 2,5 cm de altura y evaporado a sequedad. Recoger después de enfriado con 5 ml de ácido fluorhídrico. Evaporar a sequedad. Recoger con 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), evaporar a sequedad. Añadir 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R), transvasar a un matraz aforado de 50 ml y llevar a volumen con agua destilada.

4.6 **Metales pesados**

A 5 ml de la solución preparada por los ensayos (4.5), añadir 5 ml de agua, 2 ml de solución tampón pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida.

No debe producirse ningún precipitado si aparece una coloración, debe ser inferior a la que presenta el testigo preparado como se indica en el anexo y llevado a 25 ml. (Contenido en metales pesados, en relación con el extracto seco, expresado en plomo, inferior a 10 mg/kg).

4.7 **Plomo**

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5), determinar el plomo según el método descrito en el "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

4.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el mercurio según el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

4.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (4.5) determinar el arsénico según el método descrito en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

4.10 Metanol

En un matraz de 200 ml, introducir 50 ml de la solución coloidal de sílice; destilar y recoger 50 ml de destilado.

En un tubo de ensayo, poner 1 ml de destilado, 4 gotas de ácido ortofosfórico a 50 p. 100 (m/m), 4 gotas de solución de permanganato de potasio a 5 p. 100 (m/v) (R), agitar y dejar en reposo 10 minutos. Decolorar el permanganato con algunas gotas de (ocho en general) de solución 2 p. 100 (m/v) de sulfato potásico anhidro (R), evitando el exceso. Añadir 5 ml de solución sulfúrica de ácido cromotrópico (R). Llevar a un baño de agua a 70°C durante 20 minutos. No deberá desarrollarse coloración violeta.

4.11 Formaldehido

En un tubo de ensayo, colocar 10 ml del destilado obtenido en 4.10. Añadir 1 ml de solución de clorhidrato de rosanilina decolorada con ácido sulfuroso (R). No deberá desarrollarse coloración rosa.

5. CONSERVACIÓN

Las soluciones coloidales de dióxido de silicio deben ser conservadas en recipientes herméticamente cerrados al abrigo de los contaminantes y de temperaturas superiores a 0°C (el producto congela a 0°C con precipitación irreversible de sílices).

ÁCIDO SÓRBICO
Ácido trans, trans-hexa-2-4-dienóico
CH₃ - CH = CH - CH = CH - COOH
C₆H₈O₂ = 112,1
N° SIN: 200
(Oeno 45/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto de la categoría de los conservadores que tiene una acción antifúngica (ver sorbato potásico). No siendo soluble el vino, no puede ser utilizado en este estado, pero sí en la toma de su sal potásica. Puede ser soluble en ciertas bebidas espirituosas. Su utilización está sometida por un contenido límite reglamentario.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza del producto, las condiciones de conservación y de seguridad.

3. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	1,6 g/l
Agua a 100°C	38 g/l
Alcohol	55 g/l
Éter etílico	104 g/kg

Este ácido es extraíble con vapor de agua, a 100°C, el vapor tiene una concentración de ácido sórbico igual a 59/100 de la concentración de la solución diluida hirviendo.

El coeficiente de reparto éter etílico/agua:32.

4. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 4.1** Punto de fusión = 134 ± 2°C. Punto de ebullición 228°C.
- 4.2** Agitar 20 mg de ácido sórbico con 1 ml de agua de bromo (R). El color debe desaparecer.
- 4.3** Una solución que contenga 4 mg de ácido sórbico por litro de agua conteniendo 0,5 g de carbonato monosódico por litro, presenta una banda de absorción a 256 nm.

5. ENSAYOS

5.1 Humedad

El ácido sórbico no debe contener más de 0,5 % de su peso en agua (Método Karl Fisher).

5.2 Cenizas sulfúricas

El contenido en cenizas sulfúricas determinadas según el método indicado en el anexo debe ser inferior a 0,2 p. 100.

5.3 Preparación de la solución para los ensayos

Añadir 0,5 g de ácido sórbico a 70 ml de agua hirviendo. Dejar enfriar esta disolución. Filtrar sobre un matraz aforado de 100 ml, lavar el primer recipiente, el precipitado y el filtro con algunos mililitros de agua, en varias veces, hasta la obtención de 100 ml de filtrado.

5.4 Sulfatos

A 20 ml de la solución preparada para los ensayos (5.3), añadir 1 ml de ácido clorhídrico diluido a 10 P; 100 (R), 2 ml de solución de cloruro de bario (R). La mezcla debe ser límpida o la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la que presenta el blanco preparado como se indica en el anexo. (Contenido en sulfatos, expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg).

5.5 Cloruros

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (5.3), añadir 5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido a 10 p. 100 (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata de 5 p. 100 (R). La mezcla debe estar límpida, o la opalescencia observada después de 15 minutos debe ser inferior a la que tiene el blanco preparado como se indica en el anexo. (Contenido en cloruros, expresado como ácido clorhídrico, inferior a 1 g/kg).

5.6 Metales pesados

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (5.3), añadir 2 ml de solución tampón a pH 3,5 (R) y 1,2 ml de reactivo de tioacetamida (R). Aplicar el método descrito en el anexo. (Contenido en metales pesados, expresado en plomo, inferior a 10 mg/kg).

5.7 Plomo

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Sórbico (ácido)

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3), investigar el plomo por el método descrito en el "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

5.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3), determinar el mercurio según el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 1 mg/kg).

5.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (5.3), determinar el arsénico según el método descrito en el anexo. (Contenido inferior a 3 mg/kg).

5.10 Aldehidos

Preparar una solución acuosa saturada de ácido sórbico agitando 1 g de ácido sórbico con 35 ml de agua muy caliente. Dejar enfriar esta solución en un matraz tapado. Filtrar recogiendo el filtrado en un matraz aforado de 50 ml, lavar el matraz, el precipitado y el filtro con algunos mililitros de agua, en varias veces hasta la obtención de 50 ml de filtrado. Tratar 1 ml de esta solución con 0,5 ml de solución de fucsina decolorada con ácido sulfuroso (R) y comparar después de 15 minutos con un tubo testigo (blanco) obtenido con 0,5 ml del mismo reactivo y 1 ml de formaldehído en solución de 20 µg por mililitro. La coloración deberá ser menos intensa que la del blanco. (Contenido en aldehidos expresados en formaldehído, inferior a 1 g/kg).

5.11 Cuantificación

Estas determinaciones deben ser hechas con el ácido sórbico previamente desecado en un desecador con ácido sulfúrico durante 24 horas.

- 1º. Pesar una cantidad **p** de ácido sórbico próxima a 0,20 g y disolverla en 10 ml de alcohol puro; a continuación diluirlo en 100 ml de agua. Valorar la acidez con hidróxido sódico 0,1 M en presencia de fenolftaleína (R). Siendo **n** el número de mililitros empleados.

1 ml de solución de hidróxido sódico 0,1 M corresponde a 0,0112 g de ácido sórbico.

Contenido p. 100 de ácido sórbico de producto analizado:

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Sorbico (ácido)

$\frac{1,12 n}{p}$

p

- 2º. Se realiza la misma operación después de la extracción con vapor de agua. Introducir a 10 ml de solución alcohólica que contenga una cantidad **p** g de ácido sórbico, próxima a 0,2 g, en el matraz donde se produce el burbujeo del aparato de extracción con vapor de agua; añadir un cristal (de alrededor de 0,5 g) de ácido tartárico y destilar 250 ml como mínimo (hasta que el vapor no extraiga más ácido). Valorar con hidróxido sódico 0,1 M la acidez del destilado.

Según estas valoraciones, el producto analizado debe contener 98 p. 100 como mínimo de ácido sórbico.

6. CONSERVACIÓN

El ácido sórbico debe ser conservado en recipiente tapado y herméticamente cerrado.

TANINOS ENOLOGICOS
N° SIN : 181
(Oeno 12/2002)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

Los taninos enológicos se extraen ya sea de la nuez de agalla, o de una madera rica en tanino: castaño, roble, maderas exóticas, etc, o de pepitas y hollejos de uva. Los taninos están compuestos por una mezcla de glucósidos, ya sea del ácido gálico (galotaninos), o de su dilactona, del ácido elágico (elagiotaninos o taninos hidrolizables) o bien de una mezcla de proantocianidinas (taninos condensados).

Los taninos son utilizados para facilitar la clarificación de los mostos y de los vinos. No deben modificar las propiedades olfativas y la color de los vinos.

2. ETIQUETADO

La naturaleza del solvente de extracción (agua o alcohol), el origen botánico, así como la estimación de los fenoles totales, deben figurar en la etiqueta.

3. CARACTERISTICAS

El tanino enológico es de un color que va del blanco amarillento al marrón rojizo, de sabor astringente, parcialmente soluble en acetato de etilo y soluble en agua, l etanol y metanol en el caso de los taninos condensados, e insoluble en la mayor parte de los solventes orgánicos con excepción del etanol y el metanol para los taninos hidrolizables.

4. CARACTERES DE IDENTIDAD

4.1 – La solución acuosa de tanino da, con las sales de Fe (III), un precipitado azul oscuro. Entre pH 3 y 5 este precipitado desaparece por adición de una pequeña cantidad de ácido fuerte.

4.2 –La solución acuosa de tanino condensado precipita la gelatina, la albúmina de la clara de huevo, el suero sanguíneo, etc a pH comprendido entre 3 y 6. Los taninos precipitan los alcaloides (quinina, estricnina, etc.) entre pH 4 y 6.

5. CARACTERIZACION

Es posible caracterizar el origen botánico por medio de varios criterios: espectro de absorción en ultravioleta, contenido en flavanoles, proantocianidinas, ácido digálico, escopoletina (ver anexo).

6. ENSAYOS

6.1 Materias extrañas

El tanino debe ser casi enteramente soluble en el agua y el contenido en sustancias insolubles inferior a 2 p. 100 luego de agitar durante 15 minutos 10 g de tanino en un litro de agua.

6.2 Pérdida por desecación

Determinada hasta peso constante sobre una alícuota de 2 g, la pérdida de peso en la estufa a 100- 105 °C, durante 2 horas, debe ser inferior a 10 p. 100.

Todos los límites fijados aquí arriba lo son en relación al producto seco.

6.3 Cenizas

Incinerar progresivamente, sin sobrepasar 550 °C, el residuo dejado en la determinación de la pérdida en la desecación. El peso de cenizas debe ser inferior a 4 p. 100

6.4 Preparación de la solución para los ensayos

Retomar las cenizas de 2 g de tanino con 1 ml de ácido clorhídrico diluido (R) y una gota de ácido nítrico concentrado (R). Calentar sobre un baño de agua a 100 °C algunos instantes para precisar la disolución. Transvasar a un matraz aforado de 50 ml enjuagando la cápsula con agua destilada y enrasar.

6.5 Arsénico

Sobre 0,25 g de tanino, buscar el arsénico según el método descrito en el Capítulo II por espectrofotometría de absorción atómica, luego de la destrucción de la materia orgánica por vía húmeda. El contenido en arsénico debe ser inferior a 3 mg/kg.

6.6 Hierro

A 10 ml de solución para ensayos preparada según 6.4, agregar 2 ml de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100 (R) y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R). La coloración obtenida no

debe ser más intensa que aquella de un testigo preparado con 2 ml de una solución de sal de Fe(III) de 0,010 g de hierro por litro (R), 8 ml de agua y los mismos volúmenes de los mismos reactivos. El contenido en hierro debe ser inferior a 50 mg/kg. Es igualmente posible analizar el hierro por espectrometría de absorción atómica.

6.7 Plomo

Sobre la solución para ensayos preparada según 6.4 analizar el plomo según el método que figura en el Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y de los mostos por espectrofotometría de absorción atómica. El contenido en plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

6.8 Mercurio

Analizar el mercurio según el método descrito en el Capítulo II por espectrofotometría de absorción atómica. El contenido en mercurio debe ser inferior a 1 mg/kg.

6.9 Estimación de los fenoles totales

Sobre una solución acuosa de taninos a 1 g/l diluída al 1/100, medir la absorbancia a 280 nm sobre un recorrido óptico de 1 mm. La cantidad de fenoles totales se da en equivalentes ácido gálico/g y se transforma entanto por. 100 de polvo de tanino Para los fenoles totales, los resultados deben ser superiores a 65 %.

6.10 Naturaleza de los taninos

6.10.1 - Los taninos proantocianídicos se estiman por el método DMACH : mezclar 5 ml de reactivo (100 mg de dimetilaminocinamaldeído + 10 ml de HCl 12 M; después de la solubilización, completar con metanol a 100 ml) con 1 ml de solución acuosa de taninos (1g/l). Luego de 10 minutos, leer la absorbancia a 640 nm sobre 1 mm de recorrido óptico. Los resultados se expresan en equivalentes de catecol. Para los taninos concentrados el resultado debe ser superior a 10 mg/g.

6.10.2 -Para estimar los elagiotaninos se debe utilizar el método del ácido nitroso. Mezclar a 1 ml de solución acuosa de taninos (1 g/l), 1 ml de metanol y 160 µl de ácido acético a 6 p. 100 (m/v), evacuar el oxígeno por borboteo de nitrógeno durante 10 minutos, agregar luego 160 µl de nitrito de sodio a 6 p. 100

(m/v) seguido de un breve borboteo de nitrógeno (1 mn), el tubo se cierra herméticamente y la reacción se desarrolla en 60 mn en un baño de agua a 30°C. La intensidad del color desarrollado es medida por la absorbancia a 600 nm. Los resultados se expresan en mg/g de equivalentes castalgina ($\epsilon_{600\text{nm}}$: 983 g⁻¹). Para los taninos hidrolizables de tipo elágico, el resultado debe ser superior a 20 mg/g.

6.10.3 - Los taninos hidrolizables de naturaleza gálica corresponden a las otras categorías de productos que responden negativamente a los tests 6.10.1 y 6.10.2.

6.11 Modo de extracción

6.11.1 - Índice de solubilidad IS

El mismo expresa el p. 100 de solubilidad de 5 g de tanino en 100 ml de la mezcla éter dietílico/etanol (9/1, v/v). Para los taninos extraídos con agua exclusivamente el resultado debe ser inferior a 5.

6.11.2 - Índice de extractibilidad IEx :

$IEx = (D.O._{370\text{ nm}} \times 2) - (D.O._{350\text{ nm}} + D.O._{420\text{ nm}})$.

Cuando IEx es superior a 0,05, los productos son derivados de una extracción exclusivamente al agua.

7. CONSERVACION

Los taninos enológicos deben ser conservados en embalajes herméticamente cerrados.

Declaración de Dinamarca:

"Toda vez que existan diferencias en las especificaciones de pureza, en las definiciones y en los métodos de análisis entre la OIV y otras organizaciones intergubernamentales competentes, como el Codex Alimentarius y la Unión Europea, Dinamarca cree que todos los esfuerzos posibles deben ser realizados para identificar la razón por la cual esas diferencias existen y para intentar atenuar en la medida de lo posible, para evitar la existencia de reglamentaciones internacionales diferentes sobre un mismo tema."

ANEXO

RECONOCIMIENTO DEL ORIGEN BOTANICO DE LOS TANINOS
ENOLOGICOS

MATERIALES Y METODOS

Principio

El reconocimiento del origen botánico de los taninos enológicos requiere observaciones que deben ser realizadas en el orden siguiente:

- 1º) Presencia de taninos condensados extraídos de la uva,
- 2º) Presencia de taninos derivados de nuez de agalla,
- 3º) Presencia de taninos de maderas exóticas,
- 4º) Diferenciación del tanino de roble y el tanino del castaño.

Los taninos de uvas se caracterizan por un alto contenido en flavanoles expresado en (+) catequina.

Los taninos de nuez de agalla tienen alto contenido en ácido digálico. El espectro en el ultravioleta de los taninos derivados de madera exótica presenta un pico específico.

Los taninos de roble son más ricos en cumarina y particularmente en escopoletina que los taninos de castaño.

Aparatos y condiciones analíticas

- Material de vidrio de laboratorio.
- Agitador magnético.
- Espectrofotómetro de absorción UV/visible doble haz.
- Cúbetade 1 cm de recorrido óptico de vidrio (comprobar la versión francesa)
- Cubeta de 1cm de recorrido óptico en cuarzo
- Baño de agua a 100°C (facultativo)
- Rotavapor
- Sistema cromatográfico compuesto (a modo de ejemplo) por:
una bomba con gradiente para mezclas binarias
un inyector con un bucle de 20 µl
un detector espectrofotométrico con longitud de onda fija 280 nm
un detector fluorimétrico

Columna de tipo fase inversa (C18) diámetro de las partículas 5 µm, dimensiones de la columna: 20 cm X 4.6 mm para dosificar el ácido digálico y la escopoletina.

- pH metro.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Taninos enológicos

Reactivos y soluciones patrón

- para-[dimetilamino]cinamaldeído
- ácido clorhídrico en solución concentrada (R)
- (+) catequina
- ácido digálico
- etanol absoluto
- acetato de etilo
- hidróxido de sodio en solución concentrada (R)
- metanol
- éter etílico
- acetonitrilo
- ácido acético
- escopoletina
- ombeliferona
- agua destilada o desmineralizada y ultrafiltrada.

Preparación de los reactivos

Solución de p-dimetilaminocinamaldeído (p-DACA)
Se disuelven 100 mg de p-DACA en 10 ml de ácido clorhídrico 12 M y 90 ml de metanol.

Solventes de elución del ácido digálico

solvente A: metanol puro

solvente B: solución de ácido perclórico en el agua a pH 2,5

Solventes de elución de la escopoletina

solvente A: agua destilada con 3 % de ácido acético

solvente B: acetonitrilo con 3 % de ácido acético

Preparación de las soluciones patrón

Solución de (+) catequina

Disolver 10 mg de (+) catequina en 1 l de agua destilada

Solución de ácido digálico de 100 mg/litro de agua destilada

Solución de escopoletina de 20 µg /litro de agua destilada.

Modos de operación

Reconocimiento de la presencia de taninos de uva, 2 métodos posibles:

Dosificación de los flavenoles totales.

Se adicionan 5 ml de reactivo de p-DACA a 1 ml de solución acuosa de 200mg / l de tanino.

Luego de 10 mn ,se mide la absorción de la mezcla, colocada en una ccubeta de vidrio cuyo recorrido óptico sea de 10 mm, a 640 nm.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL

Taninos enológicos

Los valores de absorbancia se comparan con los valores de una curva patrón obtenida a partir de una gama de concentraciones crecientes en (+) catequina analizada en las mismas condiciones.

Dosificación de los taninos proantociánicos

A 4 ml de solución a 200 mg/l de tanino se adicionan 2 ml de agua destilada y 6 ml de ácido clorhídrico 12 M en un tubo de hidrólisis. Este tubo se lleva a 100 °C durante 30 mny luego se enfría en un baño de agua helada.

Un segundo tubo conteniendo la misma mezcla se deja a temperatura ambiente durante el mismo tiempo.

Despues se adiciona, los dos tubos 1 ml de etanol y a continuación se miden los valores de las dos absorbancias a 550 nm.

La diferencia de las dos absorbancias se multiplica por 380 para obtener el contenido en taninos proantociánicos.

Reconocimiento de los taninos de nuez de agalla

20 ml de solución acuosa de tanino de 50 mg/l son llevados a pH 7 por medio

de una solución concentrada de hidróxido de sodio (R).

Una primera serie de extracciones efectuadas con 3 veces 20 ml de acetato de etilo permite eliminar las substancias neutras.

Posteriormente , la fase acuosa se lleva a pH 2 por adición de solución concentrada de ácido clorhídrico (R)y a continuación se realizan una nueva serie de 3 extracciones con acetato de etilo.

Después de la evaporación del acetato de etilo, el residuo es retomado con 20 ml de metanol y analizado a continuación por cromatografía en las condiciones siguientes (a modo de ejemplo):

Volumen inyectado: 20 µl de extracto o de solución estándar de ácido digálico

Detección a 280 nm

Composición del gradiente de elución:

de 10 a 20 % de solvente A en 35 mn

de 20 a 40 % de solvente A en 15 mn

de 40 a 98 % de solvente A en 20 mn

flujo de la fase móvil: 0,8 ml / mn.

Reconocimiento de los taninos derivados de maderas exóticas

Preparar una solución acuosa de tanino tal que, colocada en una cuba de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico, esta solución posea una absorbancia, medida a 280 nm, comprendida entre 1 y 1,5.

Efectuar continuamente sobre esta solución medidas de absorbancia comprendidas entre 250 y 300 nm.

Anotar la presencia o ausencia de un pico máximo de absorción.

** Reconocimiento de los taninos de roble o de castaño.*

La escopoletina contenida en 20 ml de solución acuosa de tanino a 5 g/l es

extraída por 3 veces 20 ml d'éter etílico.

Después de la evaporación completa y evaporación de la fase etérea, el extracto es retomado por 50 ml de agua y luego analizado por cromatografía en las condiciones siguientes (a modo de ejemplo):

volumen inyectado: 20 µl de extracto o de solución estándar de escopoletina.

Detección fluorimétrica:

Longitud de onda de excitación: 340 nm,

Longitud de onda de emisión: 425 nm

Composición del gradiente de elución:

94 % de solvente A durante 10 mn

de 94 a 85 % en 20 mn

de 82 a 67 % en 5 mn

de 37 a 42 % en 5 mn.

Caudal de la fase móvil: 1 ml/mn

CONCLUSION

Un tanino se reconoce como derivado de la uva cuando su contenido en flavanoles totales, expresado en (+) catequina es superior a 50 mg/g o su contenido en taninos proantocianicos es superior a 0,5 mg/g.

Un tanino es reconocido como derivado de la nuez de agalla cuando su contenido en ácido digálico está comprendido entre 4 y 8 mg/g.

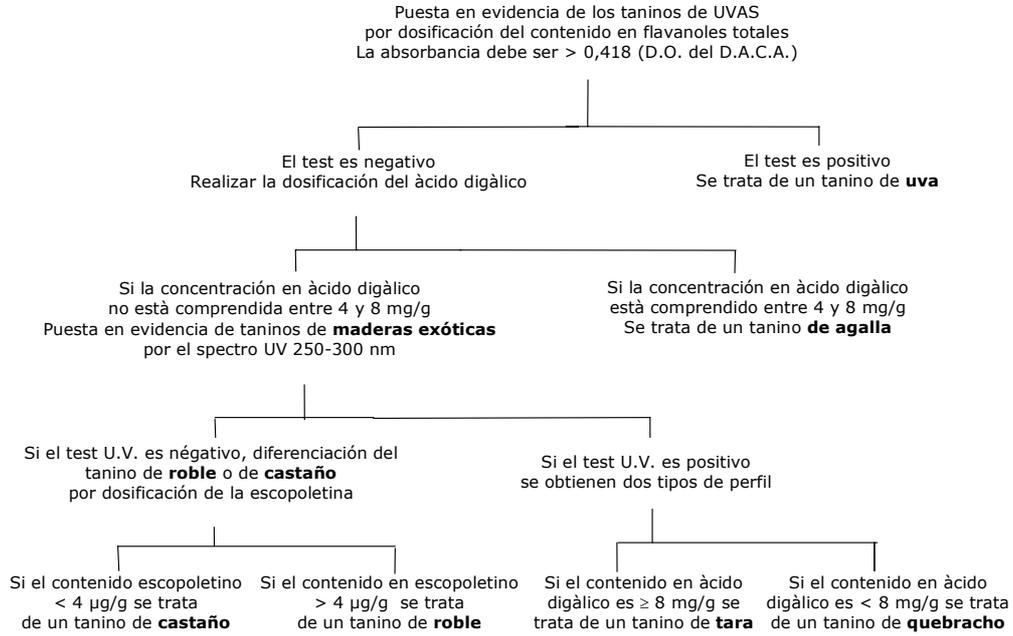
Un tanino es reconocido como derivado de maderas exóticas cuando su espectro pone en evidencia un pico de absorción entre 270 y 280 nm.

Un tanino es reconocido como derivado de roble cuando su contenido en escopoletina es superior a 4 µg/g .

Un tanino es reconocido como derivado de castaño cuando su contenido en escopoletina es igual o inferior a 4 µg/g y no ha sido identificado como derivado de otro origen.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Taninos enológicos

ORIGEN BOTANICO
CONCLUSION



CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
D,L- tartárico (ácido)

D,L-TARTÁRICO (ÁCIDO)
Acide D,L-2,3-Dihidroxiutanodioico
Ácido racémico
Acidum tartaricum
COOH - CHOH - CHOH - COOH
C₄H₆O₆ = 150,1
(Oeno 48/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto utilizado para eliminar un exceso de calcio en los mostos y en los vinos bajo determinadas condiciones. El racemato de calcio formado da sales particularmente insolubles. Su empleo está sometido al cumplimiento de determinadas reglas.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar el grado de pureza y las condiciones de conservación.

Debe asimismo mencionar claramente que se trata de la mezcla racémica de los dos isómeros D y L del ácido tartárico con el fin de que, en ningún caso, se suponga que se trata del ácido L tartárico natural de la uva.

3. CARACTERÍSTICAS

Cristales incoloros, transparentes, muy resistentes, de sabor realmente ácido. Funde instantáneamente a 170°C.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	245 g/l
Agua a 100°C	1428 g/l
Alcohol a 95% vol.	26 g/l
Éter etílico	14,9 g/l

5. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

5.1 Verificar la solubilidad total en agua; la solución al 1 p. 100 da reacción ácida frente al naranja de metilo (R). El poder rotatorio de esta solución es nulo.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
D,L- tartárico (ácido)

- 5.2** A 5 ml de solución al 1 p. 100 (m/v), añadir 2 ml de solución de acetato de calcio al 25% (R). Se forma instantáneamente un precipitado blanco cristalino muy abundante. En estas condiciones, el ácido L(+)-tartárico (o ácido tartárico dextrogiro) no da precipitado.
- 5.3** A 5 ml de solución al 10 p. 100 (m/v), añadir 2 ml de solución de acetato de potasio al 5 p. 100 (R). Se forma un precipitado cristalino.

6. ENSAYOS

6.1 Materias extrañas

El ácido D,L-tartárico debe ser soluble sin dejar residuo en diez veces su peso en agua.

6.2 Cenizas sulfúricas

Determinadas sobre 2,0 g de ácido D,L-tartárico, el contenido de cenizas sulfúricas no debe ser superior al 0,2 p. 100.

6.3 Preparación de la solución para ensayos

Disolver 10 g de ácido D,L-tartárico en agua y completar a 100 ml con el mismo disolvente.

6.4 Ácido cítrico

A 5 ml de solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 5 ml de agua, 2 ml de solución de sulfato de mercurio(II) (R), llevar a ebullición y añadir unas gotas de permanganato potásico al 2 p. 100 (R). No se deberá formar ningún precipitado blanco.

6.5 Cloruros

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100. La solución deberá cumplir el ensayo límite de cloruros descrito en el anexo. (Contenido inferior a 1 g/kg expresado en ácido clorhídrico).

6.6 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de solución de tiocianato de potasio al 5 p. 100. La coloración roja obtenida no deberá ser más intensa que la de una solución testigo preparada con 1 ml de una solución de hierro(III), de 0,010 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos. (Contenido inferior a 10 mg/kg).

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica. Según el método del "Recueil".

6.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

6.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

6.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

6.10 Sulfatos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 18 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 2 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). La solución deberá cumplir el ensayo límite de sulfatos descrito en el anexo. (Contenido inferior a 1 g/kg, expresado en ácido sulfúrico).

6.11 Oxalatos

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3), determinar el oxalato de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido, expresado en ácido oxálico, inferior a 100 mg/kg).

7. CUANTIFICACIÓN

Disolver en 10 ml de agua un alícuota **p** exactamente pesada, cercana a 1 g de ácido D,L-tartárico. Valorar con la solución de hidróxido de sodio 1 M (R), en presencia de fenoftaleina (R). Sea **n** el número de ml empleados.

1 ml de la solución de hidróxido de sodio 1 M corresponde a 0,075 g de ácido D,L-tartárico.

Contenido en tanto por ciento en ácido D,L-tartárico del producto ensayado $7,5 n$.

El producto enológico debe contener un mínimo del 99 p. 100 de ácido D,L-tartárico referido a producto seco.

8. CONSERVACIÓN

El ácido D,L-tartárico debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados.

L-TARTÁRICO (ÁCIDO)
L-2,3-dihidroxibutanodioico
Ácido tartárico dextrogiro
Acidum tartaricum
COOH - CHOH - CHOH - COOH
C₄H₆O₆ = 150,1
N° SIN : 334
(Oeno 49/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Ácido de origen natural extraído de los productos de la viña. Se utiliza para la acidificación de los mostos y de los vinos en las condiciones fijadas por la reglamentación

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar de formar particularmente clara que se trata de ácido L-Tartárico a veces escrito como L(+)tartárico, ya que su poder rotatorio es positivo, la pureza (superior a 99,5%) y las condiciones de conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Cristales incoloros, transparentes, muy resistentes, desprovistos de agua de cristalización, de sabor realmente ácido. Funde instantáneamente a 170°C.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	muy soluble
Alcohol a 95% vol.	379 g/l
Glicerol	soluble
Éter etílico	muy poco soluble

5. PODER ROTATORIO

En solución acuosa de 20 g por 100 ml

$$[\alpha]_{D}^{20^{\circ}\text{C}} \text{ está comprendida entre } +11,5^{\circ} \text{ y } +13,5^{\circ}.$$

El poder rotatorio específico varía considerablemente con la temperatura y también con el pH.

6. CARACTERÍSTICAS DE IDENTIDAD

- 6.1** Verificar la total solubilidad en agua; la solución al 1 p. 100 presenta una reacción ácida frente al naranja de metilo.
- 6.2** En un tubo de ensayo, colocar 2 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), 2 gotas de reactivo sulforesorcínico (R) y un pequeñísimo cristal de ácido tartárico (1 a 5 mg); calentar a 150°C. Se desarrolla una coloración violeta intensa.
- 6.3** A 5 ml de solución al 10 p. 100 (m/v) añadir 2 ml de solución de acetato de potasio al 5 p. 100 (R). Se debe formar inmediatamente un precipitado cristalino.
- 6.4** En un tubo de ensayo colocar 5 ml de cloroformo o de diclorometano, añadir 100 a 200 mg de ácido tartárico. Agitar. Los cristales deben congregarse en el fondo del tubo. En estas condiciones, el ácido cítrico queda en la superficie del líquido.

7. ENSAYOS

7.1 Materias extrañas

El ácido tartárico debe ser soluble sin residuo en su peso en agua y en 4 veces su peso en alcohol de 95 % vol.

7.2 Cenizas sulfúricas

Determinar como se indica en el anexo, el contenido de cenizas sulfúricas del ácido tartárico sobre una alícuota exactamente pesada y cercana a 2 g. Este contenido no deberá ser superior a 1 g/kg.

7.3 Preparación de la solución para los ensayos

Disolver 10 g de ácido tartárico en una cantidad suficiente de agua para tener 100 ml de solución.

7.4 Cloruros

A 0,5 ml de la solución preparada para los ensayos (7.3), añadir 14,5 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico diluido (R) y 0,5 ml de solución de nitrato de plata al 5 p. 100. Después de 15 minutos de reposo en la oscuridad, no se debe observar turbidez, o esta debe ser inferior a la de un testigo preparado como se indica en el anexo. (Contenido en cloruros, expresado en ácido clorhídrico, inferior a 1 g/kg).

7.5 Sulfatos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (7.3), añadir 18 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 p. 100 (R) y 2 ml de solución de cloruro de bario al 10 p. 100 (R). Después de 15 minutos de reposo, no se debe observar turbidez, o esta debe ser inferior a la de un testigo preparado como se indica en el anexo. (Contenido en sulfatos, expresado en ácido sulfúrico, inferior a 1 g/kg).

7.6 Ácido cítrico

A 5 ml de solución preparada para los ensayos (7.3), añadir 5 ml de agua, 2 ml de solución de sulfato de mercurio(II) (R), llevar a ebullición y añadir unas gotas de solución permanganato potásico al 2 p. 100 (R). No se deberá formar ningún precipitado blanco.

7.7 Ácido oxálico y bario (test)

Neutralizar por adición de hidróxido amónico 5 ml de solución preparada para los ensayos (7.3), añadir 2 gotas de ácido acético y 5 ml de solución saturada de sulfato de calcio(R). La solución debe permanecer límpida (una opalescencia podría aparecer por precipitación de oxalato de calcio o de sulfato de bario).

7.8 Ácido oxálico (cuantificación)

Si el test realizado en 7.7 es positivo, efectuar la determinación del ácido oxálico.

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.3) determinar el ácido oxálico, de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido expresado como ácido oxálico, inferior a 100 mg/kg).

7.9 Hierro

A 10 ml de la solución preparada para los ensayos (7.3), añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) y 2 ml de tiocianato de potasio al 5 p. 100. La coloración roja obtenida no deberá ser más intensa que la de una solución testigo preparada con 1 ml de una solución de hierro(III), de 0,010 g de hierro por litro (R), 9 ml de agua y cantidades iguales de los mismos reactivos. (Contenido inferior a 10 mg/kg).

El hierro puede ser medido asimismo por espectrometría de absorción atómica. Según el método descrito en el "Recueil".

7.10 Plomo

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
L-Tartárico (ácido)

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.3), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

7.11 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.3) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

7.12 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (7.3) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

8. CUANTIFICACIÓN

Disolver en 10 ml de agua un alícuota **p** exactamente pesada, cercana a 1 g de ácido L-tartárico. Valorar con la solución de hidróxido de sodio 1 M (R), en presencia de fenofaleina (R). Sea **n** el número de ml empleados.

1 ml de la solución de hidróxido de sodio 1 M corresponde a 0,075 g de ácido L-tartárico.

Contenido en tanto por ciento en ácido L-tartárico del producto ensayado $7,5 n$.

El producto enológico debe contener un mínimo del 99,5 p. 100 de ácido L-tartárico referido a producto seco.

9. CONSERVACIÓN

El ácido L-tartárico debe ser conservado en recipientes herméticamente cerrados.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Tiamina (clorhidrato de)

TIAMINA (CLORURO DE CLORHIDRATO DE)
3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)metil]-5-(2-hidroxi-etil)-4-
metiltiazolio
(cloruro de clorhidrato de)
Thiamini hydrochloridum
C₁₂H₁₈Cl₂N₄OS = 337,3
(Oeno 50/2000)

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACIÓN

Producto destinado a favorecer la fermentación alcohólica.

Su empleo esta sometido al límite fijado por la reglamentación con respecto al aporte de tiamina.

2. ETIQUETADO

La etiqueta debe mencionar la pureza, la fecha límite de utilización y las condiciones de seguridad y conservación.

3. CARACTERÍSTICAS

Polvo cristalino blanco o sensiblemente blanco de cristales incoloros, débil olor característico, fácilmente soluble en agua, soluble en glicerina, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en cloroformo y en éter etílico.

4. SOLUBILIDAD

Agua a 20°C	1000 g/l
Alcohol a 95% vol.	12,5 g/l
Glicerol	63,3 g/l
Éter etílico	

5. IDENTIFICACIÓN

La identificación **5.1** puede omitirse cuando se efectúan las identificaciones **5.2** y **5.3**. La identificación **5.2** puede omitirse cuando se efectúan las identificaciones **5.1** y **5.3**. (Métodos descritos en el anexo).

5.1 Examinar el clorhidrato de tiamina por espectrofotometría de absorción infrarroja.

Los valores máximos en el espectro de absorción obtenido con la sustancia a analizar, se deben corresponder en posición y en intensidad relativa, a los del espectro obtenido con el clorhidrato de tiamina SCR.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Tiamina (clorhidrato de)

Si los espectros presentan diferencias, disolver respectivamente la sustancia a examinar y la sustancia química de referencia en agua. Evaporar las soluciones a sequedad y preparar de nuevo los espectros a partir de los residuos obtenidos.

5.2 Disolver alrededor de 20 mg de clorhidrato de tiamina en 10 ml de agua. Añadir 1 ml de ácido acético diluido (R). y 1,6 ml de hidróxido de sodio 1 M. Calentar en baño de agua a 100°C durante 30 minutos y dejar enfriar. Añadir 5 ml de solución diluida de hidróxido de sodio (R), 10 ml de hexacianoferrato(III) de potasio (R), 10 ml de butanol y agitar enérgicamente durante 2 minutos. En la capa alcohólica, se desarrolla una fluorescencia azul clara intensa, particularmente a la luz ultravioleta a 365 nm. Repetir el ensayo con 0,9 ml de hidróxido de sodio 1 M y 0,2 g de sulfito de sodio en lugar de los 1,6 ml de hidróxido de sodio 1 M. Prácticamente no se observa ninguna fluorescencia.

5.3 El clorhidrato de tiamina da la reacción (a) de los cloruros (método descrito en el anexo).

5.4 El clorhidrato de tiamina contiene como mínimo el 98,5 p. 100 y como máximo el equivalente al 101,5 p. 100 de cloruro de clorhidrato de 3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)metil]-5-(2-hidroxi-etil)-4-metiltiazolio, calculado con respecto a la sustancia anhidra.

6 ENSAYOS

6.1 Pérdida por desecación

Colocar 2 g de tiamina en una estufa a 105°C durante 3 horas. La pérdida de peso no debe ser superior al 5 p. 100.

6.2 Cenizas sulfúricas

Operar sobre 2 g de cloruro de clorhidrato de tiamina según el método descrito en el anexo. El contenido en cenizas sulfúricas no debe ser superior al 0,1 p. 100.

6.3 Preparación de la solución para los ensayos

Disolver 5 g de clorhidrato de tiamina en agua y completar a 100 ml.

6.4 Determinación del pH

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Tiamina (clorhidrato de)

El pH de la solución preparada para los ensayos (6.3) diluida a la mitad debe estar comprendida entre 2,7 y 3.3.

6.5 Nitratos

A 1 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3), añadir 1 ml de agua, 1 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), enfriar. Depositar en la superficie del líquido 2 ml de solución de sulfato de hierro(II) al 5 p. 100 (R) preparada extemporáneamente. No se debe formar un anillo marrón en la interfase de las 2 capas.

6.6 Metales pesados

Sobre 10 ml de la solución preparada para los ensayos (6.3) determinar los metales pesados de acuerdo con el método descrito en el anexo. (Contenido en metales pesados expresados en plomo inferior a 10 mg/kg).

6.7 Plomo

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3), medir el plomo de acuerdo con el método del "Recueil". (Contenido en plomo inferior a 5 mg/kg).

6.8 Mercurio

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) medir el mercurio de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido en mercurio inferior a 1mg/kg).

6.9 Arsénico

Sobre la solución preparada para los ensayos (6.3) medir el arsénico de acuerdo con el método indicado en el anexo. (Contenido de arsénico inferior a 3 mg/kg).

7 CUANTIFICACIÓN

Disolver 0,150 g de clorhidrato de tiamina en 5 ml de ácido fórmico anhidro. Añadir 65 ml de ácido acético anhidro, a continuación, agitando, 10 ml de solución de acetato de mercurio. Efectuar la cuantificación de las sales halogenadas de las bases orgánicas en medio no acuosa valorando con ácido perclórico 0,1 M. Determinar el punto de equivalencia por potenciometría. 1 ml de ácido perclórico 0,1 M corresponde a 16,86 mg. De $C_{12}H_{18}Cl_2N_4OS$.

8 CONSERVACIÓN

El clorhidrato de tiamina debe ser conservado en un recipiente no metálico, bien cerrado y al abrigo de la luz.

UREASA
E.C. 3.5.1.5.
CAS N°: 9002-13-5
(Eno 5/2005)

ESPECIFICACIONES GENERALES

Las especificaciones deben estar de acuerdo con las especificaciones generales para las preparaciones enzimáticas que figuran en el Codex Enológico Internacional.

1. OBJETO, ORIGEN Y CAMPO DE APLICACION

La función de la enzima es degradar la urea en amoníaco y dióxido de carbono. I

La ureasa se produce a partir de *Lactobacillus fermentum*. Dicha enzima pertenece al grupo de las ureasas denominadas « ureasas ácidas ». Se activa a pH bajo.

L. fermentum se cultiva en medio sintético. Después de la fermentación se filtra el cultivo, se lava con agua y las células se matan en alcohol de 50 % vol. La suspensión se seca por liofilización o por pulverización.

La preparación consiste en un polvo formado por células muertas enteras que contienen la enzima.

La ureasa no debe contener ni sustancias ni microorganismos ni actividades enzimáticas colaterales que puedan:

- ser perjudiciales para la salud,
- ser perjudiciales para la calidad de los productos tratados,
- llevar a la formación de productos indeseables,
- ocasionar o facilitar un fraude.

2. ETIQUETADO

La concentración del producto debe indicarse en la etiqueta, así como las condiciones de seguridad, de conservación y la fecha límite de utilización.

3. ACTIVIDAD ENZIMATICA

La actividad enzimática específica declarada es de 3,5 U/mg, a saber una unidad se define como la cantidad de enzima que libera un micromole de hidróxido de amonio a partir de una solución de urea a

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Ureasa

una dosis de 5 g/l, por minuto, a pH 4 en medio tampón citrato 0,1 M a la temperatura de 37 °C.

Esta actividad es la única puesta en evidencia.

4. CARACTERÍSTICAS

La ureasa se presenta bajo forma de polvo cristalino, blanco, inodoro, de un sabor más bien dulce.

5. SOPORTES, DILUYENTES, AGENTES CONSERVADORES

La única sustancia adicionada para el acondicionamiento es la dextrina.

6. ENSAYOS

6.1 Cenizas sulfúricas

Determinar las cenizas sulfúricas según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido de cenizas sulfúricas de la ureasa no debe ser superior a 8 p. 100.

6.2 Solución para ensayos:

Disolver 5 g de ureasa en 100 ml de agua.

6.3 Metales pesados

A 10 ml de solución para ensayos (6.2) agregar 2 ml de solución tampón pH 3,5 (R), 1,2 ml de reactivo a la tioacetamida (R). No debe producirse ningún precipitado. Si aparece una coloración marrón, esta última debe ser inferior a aquella que presenta el testigo preparado como se indica en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido de metales pesados, expresado en plomo, debe ser inferior a 30 mg/kg.

6.4 Arsénico

A partir de la solución para ensayos (6.2), dosificar el arsénico según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido de arsénico debe ser inferior a 2 mg/kg.

6.5 Plomo

A partir de la solución para ensayos (6.2) dosificar el plomo según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

El contenido de plomo debe ser inferior a 5 mg/kg.

6.6 Mercurio

A partir de la solución para ensayos (6.2) dosificar el mercurio según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido de mercurio debe ser inferior a 0,5 mg/kg.

6.7 Cadmio

A partir de la solución para ensayos (6.2) dosificar el cadmio según el método que figura en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional. El contenido de cadmio debe ser inferior a 0,5 mg/kg.

7. CONTAMINANTES BIOLÓGICOS

Proceder al recuento según el método descrito en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.

- 7.1 Bacterias Totales inferiores a 5×10^4 UFC/g
- 7.2 Coliformes ausencia verificada
- 7.3 *Escherichia coli* ausencia verificada sobre una muestra de 25 g
- 7.4 *St. aureus* ausencia verificada sobre una muestra de 1 g
- 7.5 Salmonelas ausencia verificada sobre una muestra de 25 g.

No debe detectarse ninguna actividad mutágena bacteriana.

Se admite igualmente que ninguna cepa de Lactobacilo produce antibióticos.

8. APLICACION AL VINO

La ureasa debe incorporarse y mezclarse cuidadosamente en los vinos destinados a un envejecimiento superior a 1 año si dichos vinos contienen más de 3 mg/l de urea. Las dosis de utilización serán de 25 mg/l à 75 mg/l, en función de los tests realizados previamente. La acción se efectúa en menos de 4 semanas a temperatura superior a 15 °C y cuando los iones fluoruros se encuentran en cantidad inferior a 1 mg/l.

- Después de una disminución notable de la urea, por ejemplo a menos de 1 mg/l, toda actividad enzimática se elimina por filtración del vino (diámetro de poro inferior a una micra).

9. CONDICIONES DE CONSERVACION

La ureasa se conserva varios meses a baja temperatura (+ 5°C). La pérdida de actividad es de alrededor de un 50 % por año.

CHARBON ANIMAL PURIFIÉ

Charbon animal lavé

Noir en pâte

Carbo ossium depuratus

Le charbon animal purifié est obtenu par traitement du charbon animal par de l'acide chlorhydrique dilué et lavage prolongé à l'eau. Après essorage, on obtient une pâte épaisse qui constitue le *noir en pâte*, qui contient 75 à 85 p. 100 d'eau.

Par dessiccation du noir en pâte à l'étuve à 150 °C environ, on obtient une poudre noire que l'on passe au tamis de soie et conserve en flacon; c'est le *charbon animal lavé en poudre*, moins actif que le précédent pour la même quantité de charbon sec.

Essais :

1. Humidité :

Placer 5 g de charbon en pâte ou 5 g de charbon lavé en poudre dans une capsule de silice de 70 mm de diamètre. Placer dans une étuve à 100 °C aérée. La perte de poids ne doit pas être supérieure à 85 p. 100 pour le noir en pâte après 8 heures de dessiccation et à 15 p. 100 pour le noir en poudre après 3 heures de dessiccation.

Toutes les limites fixées pour le charbon animal lavé en pâte ou en poudre sont rapportées au poids de charbon sec.

2. Cendres :

Incinérer ce résidu à 500-600 °C. Le résidu doit peser au plus 0,25 g pour 1 g de charbon sec. Ces cendres, insolubles dans l'eau, doivent être presque entièrement insolubles dans l'acide chlorhydrique dilué (R).

3. Calcination incomplète :

0,5 g de charbon lavé en poudre ou le résidu de la dessiccation à l'étuve à 150 °C de 2,5 g de charbon en pâte chauffé fortement dans un tube à essai, ne doivent pas dégager d'odeur empyreumatique.

CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL
Charbon animal purifié

4. Chlorures :

Agiter la quantité de noir en pâte ou de charbon lavé en poudre correspondant à 0,067 g de charbon sec avec 20 ml d'eau distillée. Filtrer. A 5 ml de filtrat, ajouter 5 ml d'acide nitrique dilué (R). Compléter à 20 ml et ajouter 0,5 ml de solution de nitrate d'argent à 5 p. 100 (R).

Comparer l'opalescence ou le trouble éventuel à celui d'un témoin préparé comme il est indiqué à la page 134. (Teneur en chlorures inférieure à 3 p. 1 000.)

5. Cyanures :

Placer dans une fiole conique de 100 ml, la quantité de charbon lavé en poudre, ou la quantité de noir en pâte contenant 1 g de charbon sec, avec 10 ml d'acide sulfurique dilué (R). Adapter à la fiole conique un tube à dégagement plongeant dans 2 ml environ de solution saturée de borax (R) placés dans un tube à essai. Distiller et recueillir 2 à 3 ml de distillat. Ajouter V gouttes d'une solution de métabisulfite de potassium à 2 p. 100 (R), laisser en contact pendant 5 minutes. Ajouter 1 ml de sulfate ferreux à 5 p. 100 (R), laisser en contact 15 minutes. Ajouter alors II gouttes de phénolphthaléine (R) et alcaliniser légèrement avec une solution saturée de borax (R); laisser 5 minutes en contact. Ajouter II gouttes d'une solution de sulfate ferrique et d'ammonium à 10 p. 100 (R) et 1 ml d'acide chlorhydrique pur (R); il ne doit se produire ni coloration, ni précipité bleu.

6. Hydrocarbures aromatiques supérieurs :

Épuiser 1 g de charbon sec par 10 g de cyclohexane pur pendant 2 heures. L'extrait ne doit présenter aucune coloration; en lumière ultraviolette il ne doit présenter aucune absorbance entre 230 et 400 nm examiné sous 1 cm d'épaisseur et il ne doit pas être plus fluorescent qu'une solution de 0,1 mg de sulfate de quinine dans 1 l d'acide sulfurique 0,1 N; par évaporation, il ne doit pas laisser de résidu.

7. Sulfures :

Placer dans un ballon de 50 ml une quantité de charbon contenant 1 g de charbon sec avec 10 ml d'acide chlorhydrique dilué (R) et 10 ml d'eau. Distiller en recueillant 5 ml de distillat dans un tube à essai contenant 5 ml de solution normale d'hydroxyde de sodium.

1 ml de solution d'essai est additionné de 0,5 ml d'une solution de nitrate de plomb à 1 g par litre (R). On ne doit pas observer de coloration brune ou de précipité noir. (Teneur en sulfures exprimés en soufre inférieure à 20 parties par million.)

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Charbon animal purifié

8. Arsenic :

Placer dans un ballon à fond rond de 500 ml une quantité de noir en pâte ou de charbon lavé en poudre contenant 0,200 g de charbon sec, avec 20 ml d'acide nitrique pur (RAs) et 8 ml d'acide sulfurique pur (RAs). Porter à ébullition et chauffer jusqu'à disparition de toute trace de charbon. Chasser les vapeurs nitreuses en reprenant le résidu refroidi, à deux reprises, par 10 ml d'eau distillée. Rechercher l'arsenic par la méthode décrite page 126. (Teneur en arsenic inférieure à 5 parties par million.)

9. Préparation de la solution pour les essais :

Dans un flacon, placer une quantité (p g) de charbon lavé contenant 2,50 g de charbon sec avec 25 ml de solution d'acide citrique à 20 g par litre (R). Ajouter (27,50-p) ml d'eau, agiter énergiquement pendant 5 minutes et laisser reposer 12 heures. Filtrer.

10. Fer :

A 5 ml de la solution obtenue selon l'alinéa 9, ajouter 5 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique pur (R), 2 ml d'une solution de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R). La coloration obtenue doit être inférieure à celle d'un témoin préparé avec 10 ml d'une solution de sel ferrique à 0,010 g de fer par litre (R), 1 ml d'acide chlorhydrique pur (R), 2 ml de solution de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R). (Teneur en fer inférieure à 400 parties par million.)

11. Métaux lourds :

A 20 ml de la solution préparée au 9^e alinéa, ajouter 2 ml de solution de fluorure de sodium pur à 4 p. 100 (R), 0,5 ml d'acide acétique pur (R). Certains charbons cédant du calcium à la solution citrique, donnent un précipité blanc avec la solution de fluorure de sodium. Dans ce cas, filtrer après 15 minutes de repos. Au filtrat, ajouter 2 ml de solution d'acide sulfhydrique (R). La coloration brune éventuellement observée doit être inférieure à celle du témoin préparé comme il est indiqué à la page 130, mais en portant le volume à 24 ml. (Teneur en métaux lourds, exprimés en plomb, inférieure à 20 parties par million.)

12. Calcium :

Dans un verre cylindrique de 100 ml, placer 10 ml de la solution préparée selon l'alinéa 9, la chauffer à 70-80 °C, ajouter goutte à goutte 5 ml de solution d'oxalate d'ammonium (R). Laisser refroidir 1 heure et filtrer. Après lavage, le précipité d'oxalate de calcium est dissous dans 5 ml d'acide sulfurique dilué (R) et 20 à 30 ml d'eau bouillante. L'acide oxalique est titré par la solution de permanganate de potassium 0,1 N.

CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL
Charbon animal purifié

Soit n le volume utilisé :

— 1 ml de solution 0,1 N de permanganate correspond à 2 mg de calcium.

— 100 g de charbon sec contiennent donc $0,4 n$ g de calcium.

Cette quantité doit être inférieure ou égale à 1 g pour 100 g de charbon sec.

13. Détermination du pouvoir décolorant :

Dans un tube à centrifuger, placer 10 ml de vin rouge de moins de 2 ans dont la coloration est identique en intensité à celle d'une solution saturée de sulfate de cobalt (32,6 g de CoSO_4 anhydre pour 100 ml d'eau (*)), 25 mg de charbon lavé en poudre sec ou la quantité de noir en pâte correspondant à 25 mg de charbon sec et une goutte d'acide acétique pur (R).

Agiter pendant 30 minutes. Centrifuger et prélever le liquide clair surnageant. Comparer sa coloration à celle d'une gamme établie par addition de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 p. 100 d'eau au vin rouge.

Le pouvoir décolorant du charbon est chiffré par référence à l'échantillon de la gamme ci-dessus, présentant la même intensité de coloration que le vin traité par le charbon.

Le pouvoir décolorant d'un charbon lavé en poudre ou d'un noir en pâte doit être au moins de 40 dans ces conditions.

(*) Soit 58 g $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ pour 100 ml de solution ($d_{20}^{20} = 1,29$).

CHARBON ACTIVÉ
Carbo activatus

Le charbon activé œnologique est un charbon végétal doué d'un pouvoir adsorbant élevé, obtenu par un traitement approprié sans intervention de matières d'imprégnation à base de métaux.

Caractères :

Poudre noire, inodore et sans saveur, combustible au rouge sans flamme.

Essais :

On utilise pour le charbon activé les mêmes méthodes d'essais que pour le charbon animal purifié, avec les limites suivantes :

1. Humidité :

Inférieure à 15 p. 100.

2. Cendres :

Inférieures à 10 pour 100 grammes de charbon sec.

3. Chlorures :

Inférieurs à 3 p. 1 000.

4. Cyanures :

Absence.

5. Hydrocarbures aromatiques supérieurs :

Absence.

6. Sulfures :

Teneur en soufre inférieure à 20 parties par million.

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Charbon activé

7. Arsenic :

Inférieur à 5 parties par million.

8. Fer :

Inférieur à 200 parties par million.

9. Métaux lourds :

Exprimés en plomb, inférieurs à 20 parties par million. Certains charbons activés au chlorure de zinc mal lavés donnent un précipité blanc au cours de cet essai après addition de la solution d'acide sulfhydrique; ces charbons doivent être rejetés.

10. Calcium :

Inférieur à 1 g pour 100 g.

11. Détermination du pouvoir adsorbant vis-à-vis de l'iode :

Dans un tube à centrifuger, placer 10 ml de solution titrée d'iode 0,05 N, 25 mg de charbon activé sec et une goutte d'acide acétique pur (R). Agiter pendant 30 minutes. Centrifuger et prélever 5 ml de liquide clair surnageant. Titrer l'iode restant par le thiosulfate 0,05 N. Soit n ml versés : calculer la quantité d'iode adsorbée pour 100 parties d'iode utilisées : $20(5 - n)$.

Le pouvoir adsorbant vis-à-vis de l'iode d'un charbon végétal activé doit être au moins de 30 p. 100 dans ces conditions.

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL

Ecorces de levures

SPECIFICATIONS GENERALES DES PREPARATIONS DES ECORCES DE LEVURE DESTINEES AU TRAI- TEMENT DES MOOTS ET DES VINS EN VUE DE STIMULER LEUR FERMENTATION

1°- NOM : Enveloppes cellulaires de levure ou "écorces de levure".

2°- DESCRIPTION :

21 - Les écorces de levure à usage œnologique sont obtenues à partir de levures *Saccharomyces cerevisiae* cultivées sur mélasse de betterave. Ces levures ont subi une autolyse par leurs propres enzymes protéolytiques. Les enveloppes cellulaires, insolubles, sont recueillies par centrifugation, lavées avec une solution hydroalcoolique et séchées par une technique qui respecte leur surface et en conséquence leur capacité adsorbante.

22 - Les écorces de levure se présentent sous la forme d'une poudre fine, non hygroscopique, de couleur crème, peu odorante. Elles sont à base de composants ne laissant aucun résidu nuisible à la santé dans le moût de raisin et le vin.

23 - Les écorces sont conditionnées sous vide, en emballage étanche, pour éviter les phénomènes d'oxydation.

3°- IDENTIFICATION :

Distinction des écorces de levure d'avec les levures sèches actives :

CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL

Ecorces de levures

Ajoutées à la dose de 0,2 g/l à un milieu sucré nutritivement complet, les écorces de levure, contrairement aux levures sèches actives, ne doivent pas provoquer la fermentation du sucre.

4°- COMPOSITION DES ECORCES DE LEVURE (VALEURS MOYENNES)

Extrait Sec	96±	2 g pour 100 g tel quel
Matières protéiques	15±	3 g pour 100 g tel quel
Matières Grasses	20±	2 g pour 100 g tel quel
Matières Minérales	4±	1 g pour 100 g tel quel
Matières glucidiques	57±	2 g pour 100 g tel quel

41. -Matières protéiques : elles proviennent du complexe glucolipidoprotéique qui compose la paroi cellulaire des levures.

42. - Matière grasses : Les lipides présents dans les enveloppes cellulaires se répartissent pour :

50 % sous forme libres, et

50 % sous forme intimement liées aux autres composants.

Cette phase lipidique renferme une partie sous forme d'ergostérol.

43. - Matière minérales : Les matières minérales des enveloppes cellulaires sont particulièrement riches en phosphore (principalement, sous forme de phosphates).

Phosphore	1,2	g pour 100 g tel quel
Calcium	0,3	g pour 100 g tel quel
Magnésium	0,10	g pour 100 g tel quel
Sodium	0,50	g pour 100 g tel quel
Potassium	0,10	g pour 100 g tel quel
Chlorures	0,10	g pour 100 g tel quel

44. -Matières glucidiques : Cette fraction ne renferme pas de cellulose mais différents sucres qui se répartissent de la façon suivante :

Glucides solubles dans l'acide trichloracétique	10 % +/-5
Mannane	15 % +/- 5
Glycogène acido et alcalino-soluble	20 % +/-5
Glucane	55 % +/-5

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Ecorces de levures

5° - ADDITIFS ET INGREDIENTS: n é a n t

6° - CONTAMINANTS

61. chimiques	Concentration maximale
arsenic	3 mg/ kg
cadmium	0,5 mg/kg
mercure	0,5 mg/kg
plomb	10 mg/kg
métaux lourds (exprimés en plomb)	50 mg/kg
mycotoxines	5 microgrammes/ kg.

62. Microbiens:

Salmonelles: absence contrôlée sur un échantillon de 20 g.

Pseudomonas aeruginosa: absence contrôlée sur un échantillon de 1 g

Escherichia coli: absence contrôlée sur un échantillon de 1 g

Staphylocoques: absence contrôlée sur un échantillon de 1 g

Coliformes: moins de 10 par gramme

Germes banaux: moins de 10.000 par gramme.

71 - HYGIENE

71. Les écorces de levure sont produites conformément aux bonnes pratiques de fabrication des aliments.

72. Elles sont exemptes d'impuretés nocives pour la santé, conformément aux paragraphes 2.2. et 6.1

73. Elles ne doivent pas présenter d'odeur de rance et ne doivent pas céder de goût anormal au vin (goût de levure).

8° - ACTIVITE

81. L'action stimulante des écorces de levure est basée sur leur capacité d'adsorber certaines substances toxiques pour la levure, formées par elle-même au cours de sa croissance. Parmi celles-ci l'acide décanoïque est le plus inhibiteur. Il peut être utilisé comme indice de la capacité adsorbance des écorces et en conséquence de leur propriété activatrice à l'égard de la fermentation alcoolique.

82. L'activité technologique (AT) ramenée au gramme (g) de produit peut être ainsi déterminée:

1 g d'écorce de levure ajouté à une solution contenant:

- alcool 10 % vol, ac. décanoïque 2 mg/l, doit adsorber, après 24 h de contact à 18-22° C, 50 % de cet acide.

8.2.1. - Le contrôle de l'activité technologique peut être effectué par le dosage de l'acide décanoïque effectué par chromatographie en phase gazeuse selon (à titre d'exemple) les modalités suivantes:

CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL

Ecorces de levures

- appareil Carlo Erba Série 2900
- colonne F.F.A.P.
- support colonne de verre capillaire W.C.O.T.
- température 60° → 180°C, 4°C/mn
- volume injecté 1 µl de solution hydroalcoolique (10 % vol.) à 2 mg/l d'acide décanoïque traitée par les écorces de levure
- étalon interne: acide heptanoïque
- solution de référence: solution hydro-alcoolique (10 % vol) à 2 mg/l d'acide décanoïque.

822. Autre procédé de contrôle de l'activité technologique:

Utilisées à la dose de 0,2 g/l dans un jus de raisin limpide, riche en sucre (250 g/l),ensemencé avec 10⁵ cells/ml de *S. cerevisiae*, fermentant en semi-anaérobie, les écorces de levure doivent permettre la formation de 1 à 2 % vol. d'éthanol supplémentaire.

9°- EMPLOI DES ECORCES DE LEVURE

91 - Dans le moût, pour prévenir les arrêts de fermentation.

Ajouter 10 à 15 g/hl d'écorces de levure, à l'occasion d'un remontage, de préférence après la fermentation des premiers cinquante grammes par litre de sucre, sous le chapeau en vinification en rouge. En vinification en blanc si des phénomènes de production de mousse sont redoutés, ajouter les écorces dans le moût clarifié avant fermentation; leur efficacité est moins grande, mais encore importante.

92 - Dans le vin, pour traiter les arrêts de fermentation, deux cas se présentent :

a) vins rouges bien structurés.

Ajouter 20 g/hl d'écorces de levure. Procéder à deux remontages pour homogénéiser la suspension dans l'ensemble du volume. Inoculer une deuxième population de levure après 24 h.

b) vins blancs et vins rouges plus délicats qui doivent l'essentiel de leurs caractères aromatiques aux processus fermentaires.

Utiliser les écorces de levure, à la dose de 20 à 40 g/hl, uniquement dans le pied de cuve.

SODIUM (ALGINATE DE)
Natrii alginas

Sel de sodium de l'acide alginique, extrait de diverses algues Phéophycées, surtout les laminaires, par digestion alcaline et purification.

Caractères :

L'alginate de sodium est une poudre blanche ou jaunâtre, à peu près inodore et insipide, qui se présente, au microscope, composée de fragments de fibres.

Il donne avec l'eau une solution visqueuse. Le pH de cette solution est généralement compris entre 6 et 8. Il est insoluble dans l'alcool fort et dans la plupart des solvants organiques.

Si, à 5 ml d'une solution aqueuse d'alginate de sodium à 1 p. 100 on ajoute 0,50 ml de solution de chlorure de calcium à 20 p. 100 (R), il se forme un précipité gélatineux d'alginate de calcium.

Si, à 10 ml de solution aqueuse à 1 p. 100 d'alginate de sodium, on ajoute 1 ml d'acide sulfurique dilué à 10 p. 100 (R), il se forme un précipité gélatineux d'acide alginique.

Essais :

1. Amidon :

A 5 ml de solution aqueuse à 1 p. 100 d'alginate de sodium, ajouter 5 ml d'eau iodée (R); il ne doit pas se produire de coloration bleue.

2. Gélatine :

A 10 ml de solution aqueuse à 1 p. 100 d'alginate de sodium, ajouter 1 ml de solution chaude de tanin à 2 p. 100 (R) : il ne doit pas se produire de précipité.

3. Perte à la dessiccation :

Déterminée jusqu'à poids constant sur une prise d'essai exactement pesée voisine de 1 g, la perte de poids à 100-105 °C de l'alginate de sodium ne doit pas être supérieure à 25 p. 100.

CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (alginate de)

Toutes les limites fixées ci-dessous sont rapportées au produit sec.

4. Cendres sulfuriques :

Déterminé comme il est indiqué à la page 121 sur le résidu de l'essai précédent, le taux des cendres sulfuriques de l'alginate de sodium ne doit pas être supérieur à 40 p. 100.

5. Préparation de la solution pour les essais :

Dans une capsule de silice, calciner un poids d'échantillon correspondant à 2,5 g de produit sec, sans dépasser 550 °C. Reprendre le résidu par 10 ml d'eau et 2 ml d'acide nitrique pur (R). Transvaser dans un ballon jaugé de 50 ml; ajouter 2 ml d'ammoniaque pure (R). Porter à 50 ml avec de l'eau distillée. Filtrer.

6. Sulfates :

A 2 ml de la solution d'essai selon l'alinéa 5, ajouter 2 ml d'acide chlorhydrique dilué (R), porter à 20 ml avec de l'eau distillée et ajouter 2 ml de solution de chlorure de baryum (R). Le mélange doit être limpide, ou l'opalescence observée après 15 minutes doit être inférieure à celle présentée par le témoin préparé comme il est indiqué page 131. (Teneur en sulfates exprimés en acide sulfurique inférieure à 1 000 parties par million.)

7. Chlorures :

A 1 ml de la solution selon l'alinéa 5, ajouter 5 ml d'acide nitrique dilué (R), 14 ml d'eau distillée et 0,5 ml de nitrate d'argent à 5 p. 100 (R). Si une opalescence se produit, elle doit être moins intense que celle du témoin préparé comme il est indiqué page 134. (Teneur en chlorures exprimés en acide chlorhydrique inférieure à 1 000 parties par million.)

8. Fer :

2 ml de la solution selon l'alinéa 5 sont additionnés de 8 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique pur (R), d'une goutte de permanganate de potassium à 1 p. 100 (R) et de 2 ml de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R)

Si une coloration rouge apparaît, elle doit être inférieure à celle d'un témoin préparé avec 3 ml de solution ferrique à 0,010 g de fer par litre (R), 7 ml d'eau et les mêmes quantités d'acide chlorhydrique pur (R) et de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R). (Teneur en fer inférieure à 300 parties par million.)

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (alginate de)

9. Métaux lourds :

20 ml de solution selon l'alinéa 5 sont placés dans un tube à essais avec 2 ml de solution de fluorure de sodium à 4 p. 100 (R), 0,5 ml d'ammoniacque pure (R), 0,5 ml d'acide acétique pur (R) et 2 ml de solution d'acide sulfhydrique (R). Aucun précipité ne doit se produire. Si une coloration brune apparaît, elle doit être inférieure à celle présentée par le témoin préparé comme il est indiqué page 130, porté à 25 ml. (Teneur en métaux lourds, exprimés en plomb, inférieure à 20 parties par million.)

10. Arsenic :

Minéraliser par la méthode nitro-sulfurique 0,2 g d'alginate de sodium et continuer la recherche de l'arsenic comme il est indiqué page 126. (Teneur en arsenic inférieure à 5 parties par million.)

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (chlorure de)

SODIUM (CHLORURE DE)

Sel

Natrii chloridum

NaCl = 58,5

Composition centésimale :

Chlore.	60,7
Sodium	39,3

Caractères :

Le chlorure de sodium se présente en cristaux cubiques, incolores, souvent accolés en trémies et retenant un peu d'eau d'interposition. Sa saveur, dite salée, est caractéristique.

Le chlorure de sodium est hygroscopique par la petite quantité de magnésium qu'il contient; chauffé, il perd d'abord l'eau d'interposition qu'il renferme, puis il fond vers 800 °C.

Solubilité :

Eau.	2,8
Eau à 100 ° C.	2,5
Alcool à 90 % vol.	peu soluble
Alcool absolu	insoluble
Glycérol.	12

Caractères d'identité :

- A) La solution aqueuse de chlorure de sodium est neutre.
- B) Elle donne les réactions des chlorures.
- C) Elle donne les réactions du sodium.

Essais :

1. Arsenic :

Rechercher l'arsenic sur 0,500 g de chlorure de sodium suivant la méthode indiquée page 126 pour les produits ne nécessitant pas de minéralisation. (Teneur en arsenic inférieure à 2 parties par million.)

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (chlorure de)

2. Baryum :

Dissoudre 1 g de chlorure de sodium dans 5 ml d'eau. Ajouter 2,5 ml de solution saturée de sulfate de calcium (R). La solution doit rester limpide.

3. Métaux alcalino-terreux et terreux :

Dissoudre 5 g de chlorure de sodium dans 20 ml d'eau; ajouter 5 ml de solution de carbonate disodique à 25 p. 100 (R). Recueillir, laver, sécher et peser le précipité éventuellement formé. Son poids doit être inférieur à 1 p. 100.

4. Fer :

Dissoudre 1 g de chlorure de sodium dans 10 ml d'eau, ajouter une goutte de permanganate de potassium à 1 p. 100, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (R), 2 ml d'une solution de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R). La coloration obtenue ne doit pas être plus intense que celle d'un témoin préparé avec 1 ml d'une solution de sel ferrique à 0,010 g de fer par litre (R), 9 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (R), 2 ml de la solution de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R). (Teneur en fer inférieure à 10 parties par million.)

5. Métaux lourds :

Dissoudre 1 g de chlorure de sodium dans 15 ml d'eau, ajouter 0,5 ml d'une solution de fluorure de sodium à 4 p. 100 (R), 0,5 ml d'acide acétique (R) et 2 ml de solution d'acide sulfhydrique (R). La solution doit satisfaire à l'essai limite des métaux lourds (voir p. 130). (Teneur en métaux lourds, exprimés en plomb, inférieure à 20 parties par million.)

6. Dosage :

Préparer une solution contenant 1 g de chlorure de sodium desséché pour 100 ml. Prélever 10 ml de cette solution et les placer dans un vase cylindrique; ajouter 20 ml de solution 0,1 N de nitrate d'argent, 1 ml d'acide nitrique (R), 5 ml de solution de sulfate ferrique et d'ammonium (R). Titrer l'excès de nitrate d'argent par une solution 0,1 N de thiocyanate de potassium, soit n le nombre de millilitres employés.

1 ml de solution 0,1 N de nitrate d'argent correspond à 0,00585 g de chlorure de sodium.

Teneur p. 100 en chlorure de sodium :

$$5,85 (20 - n).$$

Le produit œnologique doit contenir au minimum 98 p. 100 de chlorure de sodium rapporté au produit desséché.

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (monosulfure de)

SODIUM (MONOSULFURE DE)

Natrium sulfuratum

$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O} = 240,2$

Composition analytique :

Sulfure de sodium.	32,50
Eau	67,50
Soufre.	13,35

Caractères :

Cristaux incolores ou légèrement colorés, très déliquescents, oxydables par l'air.

Solubilité :

Eau.	0,4
Alcool.	soluble

Le sel fond à 50 °C dans son eau de cristallisation.

Caractères d'identité :

Ce sel, entièrement soluble dans l'eau, présente en solution une odeur d'hydrogène sulfuré et une réaction alcaline à la phénolphtaléine.

La solution aqueuse précipite les solutions de sels de cuivre, de plomb et de fer, en donnant un précipité noir de sulfure. Avec un sel de zinc, on obtient un précipité blanc de sulfure.

La solution aqueuse donne les réactions du sodium.

Essais :

1. Préparation de la solution pour les essais :

Préparer une solution à 10 g pour 100 ml de monosulfure de sodium à analyser.

CODEX ŒNOLOGIQUE INTERNATIONAL
Sodium (monosulfure de)

2. Cette solution doit être à peu près incolore et limpide. Il ne doit rester aucune partie insoluble.

3. Polysulfures et thiosulfates :

A 20 ml de solution à 10 p. 100 de monosulfure de sodium, ajouter 4 ml d'acide chlorhydrique pur (R). L'acide sulfhydrique se dégage et la solution doit rester limpide ou tout au plus opalescente.

4. Arsenic :

La solution précédente obtenue en 3 est évaporée dans un ballon de 500 ml jusqu'à l'obtention d'un volume de 10 ml environ. Ajouter 10 ml d'acide nitrique pur (RAs) et 10 ml d'acide sulfurique pur (RAs) et terminer l'oxydation jusqu'à émission de vapeurs blanches d'anhydride sulfurique. Après avoir chassé les vapeurs nitreuses par reprise avec 10 ml d'eau et évaporation, diluer le liquide sulfurique à 100 ml avec de l'eau. Rechercher l'arsenic par la méthode décrite page 126 sur 25 ml de cette solution. (Teneur en arsenic inférieure à 2 parties par million.)

5. Dosage :

10 ml de solution à 10 p. 100 obtenue à l'alinéa 1 sont dilués au 1/10. 20 ml de cette solution à 1 p. 100 sont placés dans une fiole conique de 250 ml; ajouter 50 ml d'eau et 5 ml d'acide acétique (R) et titrer immédiatement par l'iode 0,1 N jusqu'à virage au bleu de l'empois d'amidon. Soit n le volume employé :

1 ml de solution 0,1 N d'iode correspond à 0,01201 g de monosulfure de sodium hydraté.

Teneur p. 100 en monosulfure de sodium du produit essayé :

$$6,00.n$$

Cette teneur doit être de 90 p. 100 au moins.

Conservation :

Le monosulfure de sodium doit être conservé à l'abri de l'air dans des récipients hermétiquement fermés. Ce produit ne doit pas être conservé longtemps.

Capítulo II
Técnicas analíticas
y de control

DOSIFICACION DEL 5-(HIDROXIMETIL)FURFURAL
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

Le 5-(hidroximetil)furfural(HMF) se dosifica por CLAR (cromatografía líquida de división en fase inversa)

2. APARATOS Y SOLUCIONES

2.1 Parámetros instrumentales (como ejemplo)

Cromatógrafo en fase líquida
detector UV / visible
columna : silicio injertado de tipo octadecilo (C18),
(largo: 20 cm ; diámetro interior : 4,6 mm; granulometría de la fase: 5 µm)
fase móvil : agua desmineralizada ultra filtrada - metanol - ácido acético (80, 10, 3 : v/v/v)
flujo: 0,5 ml/mn
longitud de onda de detección : 280 nm
volumen inyectado : 20 µl

2.2 Preparación de las soluciones patrón

Solución de HMF de 20 mg/l :
En un matraz aforado de 100 ml, introducir 20 mg de HMF pesado a 0,1 mg y completar al trazo de medición con agua desmineralizada ultra filtrada, introducir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml y completar con agua desmineralizada ultra filtrée;
la solución de HMF de 20 mg/l debe ser preparada cada día.

3. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras y la solución patrón de HMF son inyectadas después de la filtración sobre una membrana de 0,45 µm

4. MODO DE OPERAR

La columna cromatográfica se estabiliza con la fase móvil durante alrededor de 30 mn.

Deducir la concentración de HMF de la muestra a partir de las superficies de los picos.

**DOSIFICACION DEL ARSENICO POR GENERACION DE HIDRURO
Y ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)**

1 – CAMPO DE APLICACION

El presente método se aplica al análisis del arsénico en la gama de concentración de 0 a 200 µg/l con mineralización previa en el caso de los productos enológicos.

2 – DESCRIPCION DE LA TECNICA

2.1 Principio del método

Después de la reducción del arsénico(V) en arsénico(III), el arsénico es dosificado por generación de hidruro y espectrometría de absorción atómica.

2.2. Principio del análisis (figura nº1)

La bomba peristáltica aspira la solución de borohidruro, la solución de ácido clorhídrico y el patrón o la muestra.

El hidruro formado en el separador gas-líquido, es arrastrado por un gas neutro (argón)

La corriente gaseosa pasa por un desecante constituido por cloruro de calcio.

El arsénico del hidruro se analiza en una célula de absorción de cuarzo puesta sobre la llama de un quemador aire-acetileno.

El trayecto óptico de la lámpara de cátodo hueco del espectrómetro de absorción atómica pasa a la célula de cuarzo.

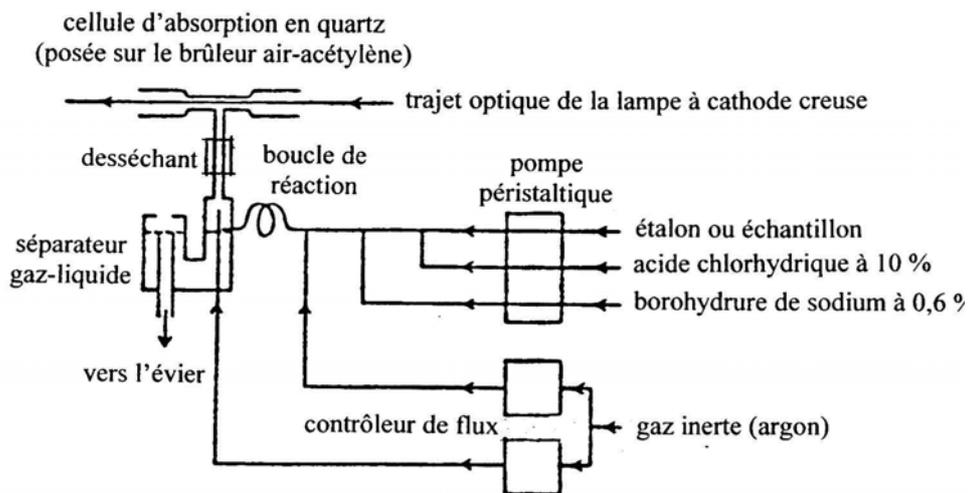


Figure n°1. Générateur d'hydrure

3 - REACTIVOS Y PREPARACION DE LAS SOLUCIONES REACTIVAS

3.1. Agua desmineralizada ultra pura

3.2. Acido nítrico ultra puro de 65 %

3.3. Ioduro de potasio KI

3.4. Ioduro de potasio de 10 % (m/v)

3.5. Acido clorhídrico concentrado

3.6. Acido clorhídrico de 10 % (m/v)

3.7. Borohidruro de sodio NaBH₄

3.8. Hidróxido de sodio NaOH en pastillas

3.9. Solución de borohidruro de sodio de 0,6 % (conteniendo 0,5 % de NaOH)

3.10. Cloruro de calcio CaCl₂ (utilizado como desecante)

3.11. Antiespuma silicona

3.12. Solución patrón de arsénico de 1 g/l conteniendo 2 % de ácido nítrico preparada a partir del ácido siguiente : H₃AsO₄ 1/2 H₂O

3.13. Solución de arsénico de 10 mg/l : colocar 1 ml de la solución patrón (3.12.) en un matraz de 100 ml ; agregar 1 % de ácido nítrico (3.2.) ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

3.14. Solución de arsénico de 100 µg/l : colocar 1 ml de la solución de arsénico de 10 mg/l (3.13.) en un matraz de 100 ml ;

agregar 1 % de ácido nítrico (3.2.) ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

4 – APARATOS

4.1. Material de vidrio :

- 4.1.1. matraces aforados de 50 y 100 ml (clase A)
- 4.1.2. pipetas aforadas de 1, 5, 10 y 25 ml (clase A)
- 4.1.3. vasos cilindricos de 100 ml

4.2. Placa de calentamiento con termostato

4.3. Filtros sin cenizas

4.4. Espectrofotómetro de absorción atómica :

- 4.4.1. quemador aire-acetileno
- 4.4.2. lámpara con cátodo hueco (arsénico)
- 4.4.3. lámpara de deuterio.

4.5. Accesorios :

- 4.5.1. generador de vapor (o separador gas-líquido)
- 4.5.2. célula de absorción de cuarzo, colocada sobre el quemador aire-acetileno
- 4.5.3. botella de gas neutro (argón)

5 – PREPARACION DE LA GAMA DE CALIBRACION Y DE LAS MUESTRAS

5.1. Gama de calibración 0, 5, 10, 25 µg/l

Colocar sucesivamente 0, 5, 10, 25 ml de la solución de arsénico de 100 µg/l (3.14.) en 4 matraces de 100 ml ; agregar en cada matraz 10 ml de ioduro de potasio de 10 % (3.4.) y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.5.) ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.) ; dejar en reposo, a temperatura ambiente, durante una hora.

5.2. Muestras de productos enológicos

La muestra se mineraliza por vía húmeda (cf. métodos de mineralización de las muestras antes de la dosificación por espectrometría de absorción atómica) luego se filtra. Transvasar 10 ml de mineralizado filtrado en un matraz de 50 ml ; agregar 5 ml de ioduro de potasio de 10% (3.4.) y 5 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.5.); agregar una gota de antiespumante (3.11.) ; ajustar al volumen con agua desmineralizada (3.1.). Dejar en reposo, a temperatura ambiente, durante una hora. Filtrar con un filtro sin cenizas.

6 – MODO DE OPERAR

6.1. Parámetros instrumentales del espectrofotómetro de absorción atómica (datos a título de ejemplo)

- 6.1.1. llama aire-acetileno oxidante
- 6.1.2. longitud de onda : 193,7 nm
- 6.1.3. ancho de la hendidura del monocromador : 1,0 nm
- 6.1.4. intensidad de la lámpara con cátodo hueco : 7 mA
- 6.1.5. corrección de la absorción no específica con una lámpara de deuterio.

6.2. Determinación analítica

La bomba peristáltica aspira las soluciones reactivas (3.6.) y (3.9.) y los patrones o las muestras (5.1.) o (5.2.).

Presentar sucesivamente las soluciones de calibración (5.1.); esperar el tiempo suficiente para que el hidruro formado en el separador gas-líquido pase dentro de la célula de absorción ; hacer una lectura de la absorbancia durante 10 segundos ; realizar dos mediciones ; el programa del ordenador del espectrómetro establece la curva de calibración (absorbancia en función de la concentración de arsénico µg/l).

Presentar a continuación las muestras (5.2.). Efectuar dos mediciones.

6.3. Autocontroles

Cada cinco determinaciones se analiza un blanco analítico y un patrón, para corregir una deriva eventual del espectrómetro.

7 – EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Los resultados son directamente impresos por la impresora del ordenador.

La concentración de arsénico en los productos enológicos se expresa en µg/kg teniendo en cuenta la toma de ensayo.

8 – CONTROL DE LOS RESULTADOS

El control de calidad se realiza colocando, luego de la gama de calibración y cada cinco muestras, un material de referencia del cual se conoce con certeza el contenido de arsénico.

Se establece una carta de control para cada material de referencia utilizado. Los límites de control fueron fijados a : $\pm 2S_R$ intra (S_R intra : desviación tipo de reproductibilidad).

9. BIBLIOGRAFIA

9.1. PESQUE M., 1982. Dosage de l'arsenic dans le vin. Rapport de stage. Diplôme d'œnologue. Institut d'œnologie de Bordeaux.

9.2. GAYE J., MEDINA B., 1998. Dosage de l'arsenic dans le vin par spectrométrie d'absorption atomique. Feuille Vert de l'O.I.V. n°1069.

9.3. GAYE J., MEDINA B., 1999. Arsenic dans les vins. Feuille Vert de l'O.I.V. n°1087.

AZUCAR DE UVA

DOSIFICACION DE LA SACAROSA POR CLAR

1. PRINCIPIO

Les muestras dilués ou mis en solución sont analysés par chromatographie liquide haute performance : Séparation sur colonne de silice greffée NH₂ et détection à l'aide d'un réfractomètre différentiel.

2. APARATOS Y CONDICIONES ANALITICAS (como ejemplo)

2.1 Cromatógrafo

- Columna de silicio con NH₂ (largo 20 cm, diámetro interior 4 mm granulometría 5 µm)
- Un sistema de bombeado
- Un pasador de muestras (eventualmente)
- Microfiltros de porosidad 0,45 µm
- Detector con refractometría diferencial

2.2 Condiciones cromatográficas (datos a título de ejemplo)

El agua utilizada es de tipo desionizada y microfiltrada.

El acetonitrilo debe ser de calidad CLAR

La composición de la fase móvil es la siguiente :

- Si la columna es nueva : acetonitrilo/agua (75/25)
- Cuando la resolución fructosa - glucosa comienza a degradarse, la fase móvil es una mezcla acetonitrilo/agua 80/20.

El flujo es de 1 ml/mn.

3. REACTIVOS Y SOLUCIONES PATRON

3.1 Preparación de la solución de referencia

Los productos químicos utilizados para la preparación de la solución madre son de calidad "puro para análisis".

La composición de esta solución es de alrededor de 10 g/l de cada azúcar (fructosa, glucosa y sacarosa).

La solución de referencia se prepara cada 15 días (máximo) y se conserva en el refrigerador en el matraz aforado de preparación de 100 ml.

HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMATICOS
DOSIFICACION DEL BENZO[a]PIRENO EN LOS CARBONES
ENOLOGICOS POR CLAR
(cromatografía líquida de alto rendimiento)
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, entre ellos el benzo[a]pireno se extraen por medio de hexano; el solvente se evapora y el residuo se retoma con la mezcla metanol-tetrahidrofurano para análisis en CLAR.

2. APARATOS Y REACTIVOS

2.1 REACTIVOS y patrones

Acetonitrilo para CLAR
Hexano para residuos de pesticidas
Tetrahidrofurano para CLAR (THF)
Agua desionizada y microfiltrada
Benzo[a]pireno para CLAR.

2.2 Aparato y condiciones cromatográficas

columna CLAR de tipo octaécilo
detector fluorimétrico regulado a las condiciones de detección siguientes:
longitud de onda de excitación : 300 nm,
longitud de onda de emisión : 416 nm.

Fase móvil:
solvente A: Agua desionizada y microfiltrada
solvente B : acetonitrilo

variaciones de composición del solvente

TIEMPO en mn	% solvente A	% solvente B
0	50	50
15	20	80
40	0	100
45	50	50

Flujo 1,0 ml/mn

2.3 Preparación de las soluciones de referencia

Solución madre de benzo[a]pireno de alrededor de 100 mg/l en una mezcla de metanol/THF (50/50) conservada 3 años como máximo en frío.

Solución hija de alrededor de 20 µg/l, preparada extemporáneamente (0,5 ml de solución madre en 50 ml de metanol/THF luego 1 ml de esta solución intermedia en 50 ml de metanol/THF).

2.4 Preparación de las muestras

2 g de carbón enológico se mezclan en un frasco cónico de 50 ml 30 ml de hexano

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se extraen durante 5 min con ayuda de un agitador magnético. La fase orgánica recuperada por filtración se recoge en un balón de evaporación y se evapora. El extracto es retomado con 2 ml de una mezcla metanol /THF (1/1, v/v) e inyectado.

3. RESULTADOS

El contenido de benzo[a]pireno no debe exceder 1 µg/kg

OBSERVACION : Es igualmente posible dosificar el benzo[a]pireno por cromatografía en fase gaseosa utilizando una columna capilar apolar con detección por espectrometría de masa.

INDICE DE BROMO
(Oeno 18/2003)

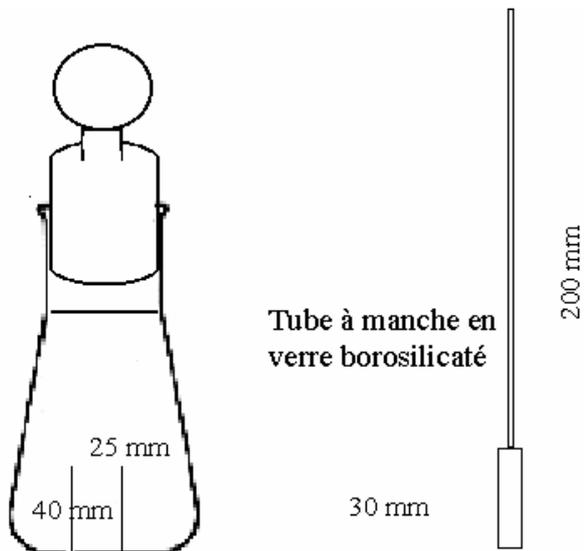
El índice de bromo es la cantidad de bromo, expresada en gramos, que pueden fijar 100 g de sustancia.

1. APARATOS

Un matraz aforado de 300 a 400 ml con un tubo interior soldado en el fondo, un tapón de esmeril y un tubo con mango, conforme al croquis presentado a continuación.

Matraz de bromuración de 300 ml en vidrio borosilicatado.
Tapón con rodaje normalizado 24/40.

Matraz de bromuración de 300 ml de vidrio borosilicatado
Tapón con rodaje normalizado 24/40



2. SOLUCIONES

2.1 Solución 0,016 M de bromato de potasio –

Esta solución contiene, para 1000 ml
Bromato de potasio KBrO_3 ; 2,783 g

Pesar de manera exacta 2,783 g de bromato de potasio e introducirlos en un matraz aforado de 1000 ml que contenga alrededor de 500 ml de agua destilada; agitar para disolver y completar a 20 °C con agua destilada el volumen de 1000 ml de solución. Mezclar y conservar en un frasco con un tapón de vidrio.

2.2 Solución 0,05 M d'iodo

Iodo I		12,69 g
Ioduro de potasio	KI	18 g
Agua	c.s.p.	1000 ml

Pesar de manera exacta 12,69 g de iodo, luego 18 g d'ioduro de potasio e introducirlos en un matraz aforado de 1000 ml con alrededor 200 ml de agua destilada. Dejar operarse la disolución en frío, con el matraz cerrado con el tapón. Agregar alrededor de 500 ml de agua destilada, agitar para absorber el iodo en estado de vapor y completar a 20 °C con agua destilada el volumen de 1 000 ml de solución. Mezclar y conservar en un frasco de vidrio topacio con un tapón de vidrio.

2.3 Solución 0,1 M de tiosulfato de sodio –

La solución 0,1 M de tiosulfato de sodio contiene para 1000 ml :
Tiosulfato de sodio $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 24,82 g

Pesar de manera exacta 24,82 g de de tiosulfato de sodio e introducirlos en un matraz aforado de 1000 ml que contenga alrededor de 600 ml de agua destilada hervida. Agitar para disolver y completar a 20 °C con agua destilada hervida el volumen de 1000 ml de solución. Mezclar. Conservar al abrigo de la luz. Controlar el título de esta solución con la ayuda de la solución de 0,05 M de iodo.

3. TECNICA

Poner, con ayuda del tubo con mango (tube à manche), alrededor de 0,50 g de ioduro de potasio en el recipiente interior del matraz; (es conveniente hacer, sobre el tubo, una marca circular que corresponda al peso de la sal, para no tener que pesar la dosis en cada

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Bromo

dosificación). Se debe tener cuidado de no introducir ioduro en la parte exterior del matraz. Introducir entonces el volumen medido de solución del producto a dosificar, disueltos en el agua neutra o alcalina en la parte exterior del matraz, luego 25 ml de solución 0,016 M de bromato de potasio medidos con una pipeta y 2 g de bromuro de potasio puro. Enjuagar las paredes con agua para alcanzar un volumen total de alrededor de 100 ml, luego agregar 5 ml de ácido clorhídrico (R); cerrar rápidamente el matraz con el tapón, cuyo rodaje ha sido humectado con agua destilada; con un movimiento circular, homogeneizar el contenido y dejar reposar el tiempo preconizado. Agitar luego *vigorosamente* el matraz de manera que el ioduro de potasio se ponga en contacto con el líquido y para permitir que reaccione el bromo en estado de vapor; abrir el matraz y enjuagar el rodaje y el tapon con un chorro de agua destilada y dosificar el iodo con 25 ml de solución 0,1 M de tiosulfato de sodio; titular el exceso de tiosulfato de sodio con la solución 0,05 M de iodo en presencia de engrudo, es decir n el volumen empleado :

Cantidad de bromo (en mg) fijado por la substancia a dosificar = $n \times 0,008$

DOSIFICACION DEL CADMIO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

El cadmio se dosifica en los productos enológicos sólidos luego de mineralización por vía húmeda o directamente en el caso de los productos enológicos líquidos o puestos en solución.

Las dosificaciones son realizadas por absorción atómica sin llama (atomización electro-térmica en un horno grafito).

2. APARATOS

2.1 Parámetros instrumentales (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro equipado con un atomizador con tubo de grafito.

longitud de onda: 228,8 nm

Lámpara con cátodo hueco (cadmio)

ancho de la hendidura : 1 nm

intensidad de la lámpara : 3 mA

corrección del fondo continuo por efecto Zeeman

horno de grafito con una plataforma tantalizada

(modo de operar de la tantalización de la plataforma descrito arriba)

regulación del horno para un análisis :

etapa	temperatura (°C)	duración (s)	flujo de gas (l / mn)	tipo de gas	lectura de la señal
1	100	35	3,0	argón	no
2	500	10	3,0	argón	no
3	500	45	1,5	argón	no
4	500	1	0,0	argón	no
5	2250	1	0,0	argón	si
6	2250	1	0,0	argón	si
7	2500	2	1,5	argón	no
8	1250	10	3,0	argón	no
9	75	10	3,0	argón	no

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cadmio

2.2 Regulación del muestreador automático (datos a título de ejemplo)

	volúmenes inyectados en μ l		
	solución de Cd a 8 μ g/l	blanco	modificador de matriz
blanco	0	10	2
patrón N° 1 à 8 μ g / l	1	9	2
patrón N° 2 à 16 μ g / l	2	8	2
patrón N° 3 à 24 μ g / l	3	7	2
patrón N° 4 à 32 μ g / l	4	6	2
muestra a dosificar	5	5	2

3. REACTIVOS

Agua desmineralizada

Acido nítrico puro para análisis de 65 %

Cloruro de paladio anhidro (59 % en Pd)

Nitrato de magnesio de 6 moléculas de agua (ultra puro)

Dihidrogenofosfato de amonio

Modificador de matriz : mezcla de cloruro de paladio y de nitrato de magnesio (disolver 0,25 g de PdCl_2 y 0,1 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 50 ml de agua desmineralizada) o dihidrogenofosfato de amonio de 6% (disolver 3 g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en 50 ml de agua desmineralizada).

Solución madre de cadmio de 1g/l, comercial o preparada de la manera siguiente : disolver 2,7444 g $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

Solución de cadmio de 10 mg/l : colocar 1 ml de la solución madre en un matraz aforado de 100 ml, agregar 5 ml de ácido nítrico puro y completar el volumen con agua desmineralizada.

Solución de cadmio de 0,8 g/l : colocar 4 ml de la solución diluída en un matraz aforado de 50 ml, agregar 2,5 ml de ácido nítrico puro y completar el volumen con agua desmineralizada.

Gama de calibración: 0, 8, 16, 24, 32 μ g/l de cadmio.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

No es necesaria ninguna preparación para los productos enológicos líquidos o en solución, y los productos sólidos han sido mineralizados por vía húmeda

El blanco está constituido por una solución de ácido nítrico puro para análisis de 1%.

5. MODO DE OPERAR

Cada solución de calibración se pasa inmediatamente después del blanco. Hacer dos lecturas sucesivas de absorbancia y establecer la curva de calibración.

Calcular los contenidos de cadmio de las muestras teniendo en cuenta la toma de ensayo de las diferentes diluciones.

DOSIFICACION DEL CALCIO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

PRINCIPIO

El calcio se dosifica directamente en el producto enológico líquido (o en la solución de mineralización) convenientemente diluido, por espectrometría de absorción atómica en llama aire-acetileno, luego de la adición de un tampón espectral.

APARATOS

Parámetros instrumentales (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica

llama aire-acetileno reductora

lámpara de cátodo hueco (calcio)

longitud de onda: 422,7 nm

ancho de la hendidura: 0,2 nm

intensidad de la lámpara : 5 mA

No se corrige la absorción no específica.

3. REACTIVOS

3.1 agua desmineralizada

3.2 solución madre de calcio de 1 g/l, comercial o preparada de la manera siguiente : disolver 5,8919 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

3.3 solución de calcio de 100 mg/l : colocar 10 ml de la solución madre en un matraz aforado de 100 ml y 1 ml de ácido nítrico puro.

completar el volumen con agua desmineralizada

3.4 ácido clorhídrico concentrado (R): 35 % mínimo

3.5 solución de lantano de 25 g/l :

pesar 65,9 g de cloruro de lantano ($\text{LaCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en un vaso de precipitado de 250 ml, transvasar a un matraz aforado de 1000 ml con agua desmineralizada; agregar a la probeta 50 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) ; luego de la solubilización dejar enfriar, completar el volumen con agua desmineralizada.

3.6 gama de calibración: 0, 2, 4, 6, 8 mg/l de calcio

colocar sucesivamente 0, 1,0, 2,0, 3,0 et 4,0 ml de la solución de 100 mg/l de calcio en 5 matraces aforados de 50 ml, agregar 10 ml de la solución de lantano de 25 g/l, completar el volumen con agua desmineralizada.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

4.1 Caso de los productos enológicos líquidos o en solución

En un matraz aforado de 50 ml colocar 10 ml de la solución de lantano y un volumen de muestra de manera tal que después de haber completado el volumen con agua desmineralizada la concentración sea inferior a 8 mg/l.

4.2 Cas des produits oenologiques sous forme solide

Proceder a una mineralización por vía seca ; poner en cada solución de la gama la misma cantidad de ácido utilizada para la puesta en solución de las cenizas o la mineralización (ver el capítulo « Mineralización »).

Retomar las cenizas con 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (35 % mínimo), en un matraz de 100 ml ; agregar 20 ml de la solución de lantano a 25 g/l et completar el volumen con agua desmineralizada.

Realizar un blanco en las mismas condiciones.

5. MODO DE OPERAR

Pasar cada solución de la gama por orden creciente de la concentración de calcio.

Hacer para cada solución 2 lecturas de absorbancia cuando estén perfectamente estabilizadas (tiempo de integración de la señal: 10 segundos).

Pasar 2 veces cada muestra y calcular los contenidos de calcio.

CENIZAS SULFURICAS
(Oeno 18/2003)

Las cenizas sulfúricas resultan de la calcinación en contacto con el aire después de un ataque con ácido sulfúrico.

Llevar a rojo un crisol de silicio o de platino de forma baja durante 30 mn, dejar enfriar en un desecador al vacío y tarar el crisol. Colocar la toma de ensayo exactamente pesada en el crisol y mojarla con la cantidad suficiente de ácido sulfúrico (R) concentrado previamente diluído por un volumen igual de agua. Calentar hasta la evaporación en seco, luego en el horno de mufla, primero con precaución, luego hasta el rojo sin sobrepasar la temperatura de $600 \text{ }^\circ\text{C} \pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Mantener la calcinación hasta la desaparición de las partículas negras, dejar enfriar, agregar al residuo 5 gotas de ácido sulfúrico diluído a la mitad, luego evaporar y calcinar como anteriormente hasta peso constante, pesar después de enfriamiento en el desecador.

Calcular la cantidad de cenizas sulfúricas en relación a 100 g de substancia.

CENIZAS TOTALES

Las cenizas totales resultan de la calcinación del producto en contacto con el aire.

Llevar al rojo un crisol de silicio o de platino de forma baja durante 30 mn. Dejar enfriar en un desecador al vacío y tarar el crisol. Disponer de manera homogénea la toma de ensayo pesada exactamente en el crisol. Desecar durante una hora en la estufa a $100\text{-}105 \text{ }^\circ\text{C}$. Incinerar en el horno de mufla, primero con precaución, para evitar que la muestra se inflame, luego al rojo a una temperatura de $600 \pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Mantener la calcinación hasta la desaparición de las partículas negras. Durante 30 min dejar enfriar en un desecador al vacío. Pesar. Continuar la calcinación hasta obtener una masa constante.

Si persisten las partículas negras, retomar las cenizas con agua destilada caliente. Filtrar estas cenizas sobre un filtro sin ceniza (porosidad $10 \text{ }\mu\text{m}$). Incinerar el filtro y el residuo hasta masa constante. Reunir las nuevas cenizas con el filtrado. Evaporar el agua. Incinerar el residuo hasta masa constante.

Calcular el contenido de cenizas totales en relación a 100 g de substancia.

BUSQUEDA DE CLORUROS
(Oeno 18/2003)

En un tubo de ensayo de 160 x 16 mm, colocar el volumen prescrito de solución obtenida de la manera indicada en cada monografía; agregar 5 ml de ácido nítrico diluido (R); completar a 20 ml y agregar 0,5 ml de solución de nitrato de plata de 5 p. 100 (R).

Comparar la opalescencia o la eventual turbidez a las del testigo preparado con 0,5 ml de ácido clorhídrico de 0,10 g por litro (es decir 0,05 mg de HCl) con el agregado de 5 ml de ácido nítrico diluido (R), y ajustar a 20 ml con agua destilada. Agregar 0,5 ml de solución de nitrato de plata de 5 p. 100 (R). Este tubo contiene 50 µg de HCl.

DOSIFICACION DEL COBRE
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

Se dosifica el cobre por espectrometria de absorción atómica en llama utilizando la técnica de adición estándar

APARATOS

Parámetros instrumentales: (datos a título de ejemplo)

(Espectrofotómetro de absorción atómica)

llama: aire-acetileno oxidante

longitud de onda: 324,7 nm

lámpara de cátodo hueco (cobre)

ancho de la hendidura: 0,5 nm

intensidad de la lámpara: 3,5 mA

no se corrige la absorción no específica.

3. REACTIVOS

3.1 agua desmineralizada pura para análisis

3.2 ácido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 solución madre de cobre de 1 g/l, comercial o preparada de la manera siguiente : disolver 3,8023 g de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en una solución de HNO_3 0,5M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5M.

3.4 solución de cobre de 10 mg/l : colocar 2 ml de la solución madre de cobre en un matraz aforado de 200 ml, agregar 2 ml de ácido nítrico de 65 % y completar el volumen con agua desmineralizada.

Regular el aparato con una solución patrón de 0,4 mg/l (2 ml de la solución de cobre de 10 mg/l en un matraz aforado de 50 ml, completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis).

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS (METODO DE AGREGADO DE DOSIS)

- Agregado de 0,2 mg/l de cobre :

colocar 5 ml de producto enológico líquido o de mineralizado de producto enológico obtenido por vía seca en un frasco y agregar 100 μl de la solución de cobre de 10 mg/l ;

- Agregado de 0,4 mg/l de cobre :

colocar 5 ml de producto enológico líquido o de mineralizado en un frasco y agregar 200 μl de la solución de cobre de 10 mg/l

- dilución de la muestra

Dilución de la muestra : la dilución es necesaria solamente si el contenido de cobre es superior a 0,5 mg/l de cobre.

5. MODO DE OPERAR

Para cada muestra pasar en el orden :

- el blanco (agua desmineralizada)
- la muestra con adición de 0,2 mg/l de cobre
- la muestra con adición de 0,4 mg/l de cobre
- la muestra sin adición

los resultados se obtienen automáticamente o por ou par grafo manual.

METODOS DE ANALISIS MICROBIOLOGICOS
CONTROL BACTERIOLOGICO
(Oeno 17/2003)

1 – Rehidratación previa de las levaduras secas activas (LSA)

- pesar en forma estéril 1 g de LSA ;
- agregar en forma estéril 100 ml de agua a temperatura ambiente (20 °C) ;
- homogeneizar delicadamente con la ayuda de una pequeña barra y de un agitador magnético durante 5 minutos ;
- detener la agitación y dejar reposar durante 20 minutos, a una temperatura de 25 –30 C;
- homogeneizar nuevamente a temperatura ambiente durante 5 mn ;
- extraer en forma estéril 10 ml y realizar los controles microbiológicos sobre la solución madre homogeneizada.

2 – Rehidratación previa de las bacterias

- pesar en forma estéril 1 g de bacterias lácticas,
- agregar en forma estéril 100ml de agua a temperatura ambiente (25 °C)
- homogeneizar con una placa magnética durante 5 mn
- dejar luego durante 20 mn siempre a temperatura ambiente (20 °C)
- homogeneizar despues durante 5 mn a temperatura ambiente (20 °C)
- extraer en forma estéril 10 ml y proceder a los controles microbiológicos.

3 – Recuento de levaduras

3.1 - Medio YM agar (MALT WICKERHAM)

Composición :

Agar agar bacteriológico	15 g
Extracto de levadura	3 g
Extracto de malta	3 g
Peptona	5 g
Glucosa	10 g
Agua	c.s p 1000 ml

previamente a su empleo, el medio debe ponerse en autoclave a 120 °C

durante 20 mn.

Después de la inoculación, las cajas se ponen a incubar a 25 °C en anaerobiosis durante 48 a 72 horas.

Contar el número de UFC y expresarlo en peso de materia seca.

3.2 - Medio YMS agar

Composición :

Gelosa	20 g
Glucosa	20 g
Extracto de levadura	5 g
Extracto de malta	3 g
Peptona	2 g
Acido málico	4 g
Zumo de uva	100 ml
Complejo de vitaminas*	1%
Agua	c.s.p. 1000 ml

previamente a su empleo, el medio debe ponerse en autoclave a 120 °C durante 20 mn

Luego de la inoculación, las cajas se ponen a incubar a 25 °C en anaerobiosis durante 48 a 72 horas.

Contar el número de UFC y expresarlo en peso de materia seca.

* Complejo de vitaminas (inositol 25 mg, biotina 0,02 mg, pantotenato de Ca 4 mg, ácido fólico 0,002 mg, nicotinamida 4 mg, ácido paraminobenzoico 2 mg, clorhidrato de piridoxina 4 mg, riboflavina 2 mg, tiamina 10 mg, agua c.s.p. 1000)

3.3 - Medio OGA

Composición:

Extracto autolítico de levadura	5 g
Glucosa	20 g
Agar agar bacteriológico	15 g
Agua	c.s.p. 1000 ml

En autoclave a 120 °C durante 20 mn.

Después de la inoculación, incubación a 25 °C en anaerobiosis durante 48 a 72 horas.

Contar la cantidad de UFC y registrar el peso de materia seca.

4 – Recuento de levaduras de una especie diferente de la cepa *Saccharomyces* según el test de lisina

Test de lisina

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

Las levaduras se cultivan en un medio con lisina cuya composición es la siguiente:

Gelosa	20 g
Monohidrocloreuro de L-lisina	5 g
Glucosa	1 g
Púrpura de bromocresol	0,015 g

Agua c.s.p. 1000 ml
Ajustar pH 6,8 ± 0,2

Esterilizar en autoclave durante 20 mn a 120 °C.

Después de la inoculación, las cajas se ponen a incubar a 25 °C en anaerobiosis durante 48 a 72 horas.

Contar el número de UFC y expresarlo en peso de materia seca.

5 -Determinación de la cantidad de bacterias lácticas revivificables.

5.1 - Medio MTB/s agar

Composición:

Glucosa	15 g
Peptona	8 g
Extracto de levadura	5 g
Hidrolizado de caseína	1 g
Zumo de tomate	20 ml
Acetato de Na	3 g
Citrato de NH ₄	2 g
Acido málico	6 g
Sulfato de Mg	0,2 g
Sulfato de Mn	0,035 g
Tween 80	1 ml
TC Vitamina mínima Eagl	10 ml

después de la esterilización:

ajustar pH 5,0 y agregar

Agar	2%
Agua	c.s.p 1000 ml

Sorbato de potasio (400 mg/l de medio líquido) o agregar directamente en la caja de Petri 0,2 ml de una solución hidroalcohólica de pimaricina de 25% m/v.

Esterilización a 120 °C durante 20mn

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

Incubar en anaerobio para contrastar los mohos a 25 °C durante 8 a 10 días.

5.2 - Medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS)

Las bacterias son cultivadas en un medio MRS líquido (Man, Rogosa, Sharpe 1960) cuya composición es la siguiente :

Agar agar	15 g
Bacto-peptona	10 g
Extracto de carne	10 g
Extracto de levadura	5 g
Acetato de sodio	5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Citrato de trisodio	2 g
MgSO ₄ a 100 mg/l	2,5 ml
MnSO ₄ a 20 mg/l	2 ml
Tween 80	1 ml
Acido DL málico	5 g
Zumo de tomate concentrado*	20 ml
Glucosa	20 g
Ajustar (HCl o NaOH)	pH 4,8
Agua destilada	c.s.p. 1000 ml

Poner en autoclave a 120 °C durante 20 mn

Sorbato de potasio (400 mg/l de medio líquido) o
agregar directamente en la caja de Petri 0,2 ml de una solución
hidroalcohólica de pimaricina de 25% m/v

Incubar a 25 °C durante 8 a 10 días en anaerobiosis

*el zumo de tomate está destinado a mejorar el crecimiento de las
bacterias lácticas.

preparación : elegir zumo de tomate en conserva que contenga al
menos 7 g/l de Na Cl (maxi 9 g/l)
centrifugar à 4000 g pendant 20 mn ;
recoger el zumo claro y filtrar sobre papel filtro;
poner en autoclave a 120 °C durante 20 mn.

6 – Recuento de mohos

medio Czapeck-Dox/s gelosado

Composición :

Agar agar	15 g
Sacarosa	30 g
NaNO ₃	3 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄	0,01 g
Sorbato de potasio	0,4 g
Agua	c.s.p. 1000 ml
Ajustar	pH 3,5

esterilización a 120 °C durante 20mn

Agregar directamente en la caja de Petri 0,1 ml de una solución de penicilina de 0,25% en alcohol puro.

Incubar en aerobio a 20 °C durante 10 días.

7 – Recuento de las bacterias acéticas

Act/s agar

Composición:

Agar agar bacteriológico	20 g
Extracto de levadura	5 g
Acidos aminados de caseína	5 g
Glucosa	10 g
Ajustar a	pH 4,5
Agua	c.s.p. 1000 ml
esterilización	

Incubar en aerobio a 25 °C durante 7 días.

Sorbato de potasio (400 mg/l de medio líquido) o

Agregar directamente en la caja de Petri 0,2 ml de una solución hidroalcohólica de pimarcina de 25% m/v.

8 - Recuento de salmonellas

8.1. Principio

La muestra pasa por una fase de pre-enriquecimiento en agua peptonada tamponada unas 16 a 20H a 37 °C. Luego de esta etapa, una parte alícuota de este caldo es inoculada en un dispositivo para cultivo, que debe contener un medio específico y 2 tubos especiales (constituidos por dos partes), y se incuba durante 24 H a 41 °C. Las *Salmonella* emigran de la parte inferior (medio selectivo) a la parte superior del tubo (medio indicador). La presencia de *Salmonella* se traduce en un cambio de coloración de esta última.

8.2. Aparatos y condiciones analíticas

Las puestas en cultivo y las diversas preparaciones son realizadas en la zona de esterilidad asegurada por el mechero Bunsen. El material utilizado es sometido a una destrucción por autoclave 1 H a 120 °C o por inmersión en lejía durante 18 H como mínimo (cf procedimiento de limpieza).

Probeta en vidrio estéril de 125 ml
bolsa stomacher estéril.
barrette de fermeture.
stomacher.
tubos de vidrio estériles 16 x160 mm.
tubos de ensayo de vidrio 20 x 220 algodónados.
pipetas estériles de material plástico de 2 ml graduadas en 0,1 ml.
pipetas estériles de material plástico de 10 ml graduadas en 0,1 ml.
agitador de tubos.

Dispositivo para rehidratar cultivo.

una jeringa estéril en material plástico de 2 ml con una aguja estéril.

pinza brucelle.
llave para destapar los tubos A y B del dispositivo de cultivo.
lámina de vidrio limpia.
pipetas Pasteur estériles algodónadas.
Óse.
estufa a 41 °C ± 1 °C.
estufa a 37 °C ± 1 °C.

mechero Bunsen.

8.3. Reactivos

Agua peptonada estéril (EPT)
agua destilada estéril (EDS).
frasco estéril de 500 ml atornillado, previamente llenado con 125 ml de EPT .
frasco estéril de 500 ml atornillado, previamente llenado con 225 ml de EPT .
medio especial para *Salmonella* :SRTEM.
disco de novobiocina (1,8 mg de novobiocina).
gelosa Hektoën (cf DOMIC-08).
galerie API 20E.
tubos de gelosa TSAYE inclinada .
solución de NaCl estéril a 8,5 g/l
suero anti *Salmonella*.

8.4. Modo de operar

8.4.1 Preparación de la solución madre

La solución madre difiere según la naturaleza de los productos y del índice de dilución.

Agregar en un sachet stomacher una toma de ensayo de 25 gramo(s) o mililitro(s) de producto a una cantidad de agua peptonada 9 veces superior

Cerrar el sachet por soldadura térmica o con una barrette.

Triturar con el stomacher durante 1 minuto.

8.4.1.1 Fase de pre-enriquecimiento en medio no selectivo líquido:

Incubar la suspensión madre unas 16 a 20H a 37 °C ± 1 °C.

8.4.1.2 Enriquecimiento en medio selectivo líquido:

Preparación del dispositivo de cultivo

- desatornillar la tapa del recipiente para cultivo;
- agregar EDS hasta la línea 1 marcada sobre el cuerpo del recipiente.

Observación : La base de los tubos A y B debe estar situada bajo el nivel del agua.

- adaptar la aguja a la jeringa y asegurarse de que el pistón de la jeringa está hundido (ausencia de aire) ;
- introducir verticalmente la aguja fijada a la jeringa en la pastilla de caucho en el centro del tapón del tubo A

(tapón azul), asegurándose que la aguja sea visible bajo este tapón ;

- tirar delicadamente sobre el cuerpo de la jeringa hasta que el líquido llegue a la línea 3 marcada sobre el cuerpo del recipiente.

Observación: no aspirar líquido en la jeringa.

esta operación debe tomar alrededor de 5 segundos.

- Repetir la operación para el tubo B (tapón rojo) ;
- Bien atornillar nuevamente el tapón del recipiente de cultivo;
- Apoyar el costado del recipiente sobre un agitador de tubo manteniéndolo al mento 5 segundos.

Observación: el líquido en los tubos A y B debe ser fuertemente agitado.

- Dejar reposar el dispositivo de cultivo al menos durante 5 minutos ;
- Desatornillar el tapón del recipiente de cultivo y verter el medio SRTEM hasta que el nivel alcance la línea 2 marcada sobre el cuerpo del recipiente;
- Agregar con la pinza brucelle un disco de novobiocina ;
- Retirar los tapones de los tubos A (azul) y B (rojo) con la llave, luego tirarlos.

Observación: evitar tocar con las manos los tubos así como también las paredes internas del dispositivo.

Inoculación del dispositivo de cultivo:

- Homogeneizar el cultivo de pre-enriquecimiento;
- Identificar el dispositivo de cultivo anotando el número de análisis en la tapa;
- Desatornillar la tapa.
- Con una pipeta de 2 ml introducir 1 ml de cultivo de pre-enriquecimiento en el recipiente de cultivo.
- Atornillar el tapón sobre el dispositivo de cultivo.
- Anotar la fecha y la hora de incubación.
- Incubar 24H \pm 30 mn a 41 °C \pm 1 °C en posición estrictamente vertical.

8.4.2 Lectura e interpretación

Ella es realizada observando, a través de las paredes del recipiente, la parte superior de los tubos A y B.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

La presencia eventual de *Salmonella* se caracteriza por una modificación del color del medio indicador situado en la parte superior de uno de los dos tubos o de los dos tubos:

REACCION	TUBE A	TUBE B
positivo :	todos los grados de coloración negra.	todos los grados de coloración roja o negra
negativo :	ausencia de coloración negra	ausencia de coloración roja o negra

El o los tubo(s) que presentan una reacción positiva es o son sometidos a un aislamiento sobre gelosa selectiva.

- Secar las cajas de gelosa Hektoën en una estufa a $46\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la desaparición completa de las pequeñas gotas de la superficie del medio (tapa retirada y superficie de la gelosa retornada hacia abajo).
- Extraer una öse en la superficie del medio indicador positivo e inocular en 5 ml de EPT, acondicionados en un medio estéril 16 x 160 mm, para obtener una dilución del cultivo.
- Proceder de esta manera para cada uno de los tubos positivos.
- Identificar la caja anotando sobre la tapa el n° de análisis y la letra del tubo en curso de confirmación.
- Homogeneizar la dilución del cultivo, extraer una öse.
- Aislar en la superficie de la gelosa Hektoën para permitir el desarrollo de colonias aisladas.
- Incubar 24H a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- seleccionar al menos 2 colonias aisladas consideradas como típicas

8.4.3 Confirmación

8.4.3.1 Tests bioquímicos

- Identificar las diferentes colonias por el empleo de galerías miniaturizadas específicas (galerie API 20E) reportándose a las prescripciones del fabricante.
- incubar 24H a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- inocular en paralelo: una gelosa para confirmar la pureza de la cepa.
1 gelosa TSAYE inclinadas para la tipificación serológica.
- incubar 24H a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- lire la galerie API20E siguiendo las indicaciones del fabricante.
- comparar el perfil obtenido a los perfiles tipo dados por el fabricante.

- conservar la gelosa TSAYE inclinada en el refrigerador hasta su utilización.

8.4.3.2 Tests serológicos :

Son realizados cuando el perfil de una cepa corresponde a una *Salmonella*. Los tests son realizados según las prescripciones definidas por el fabricante a partir de cultivo puro obtenido sobre la gelosa y luego de la eliminación de las cepas auto-aglutinables.

Eliminación de las cepas auto-aglutinables:

- Colocar una gota de solución salina 8,5 g/l sobre una lámina de vidrio perfectamente limpia.
- Dispersar en ella un poco de cultivo extraído de la gelosa nutritiva para obtener una suspensión homogénea y turbia con ayuda de una pipeta Pasteur.
- Hacer oscilar la lámina 30 a 60s.
- Observar sobre el fondo negro con ayuda de una lupa: si se observan agrupamientos más o menos distintos la cepa es considerada como auto-aglutinable y no puede ser sometida a la tipificación serológica.

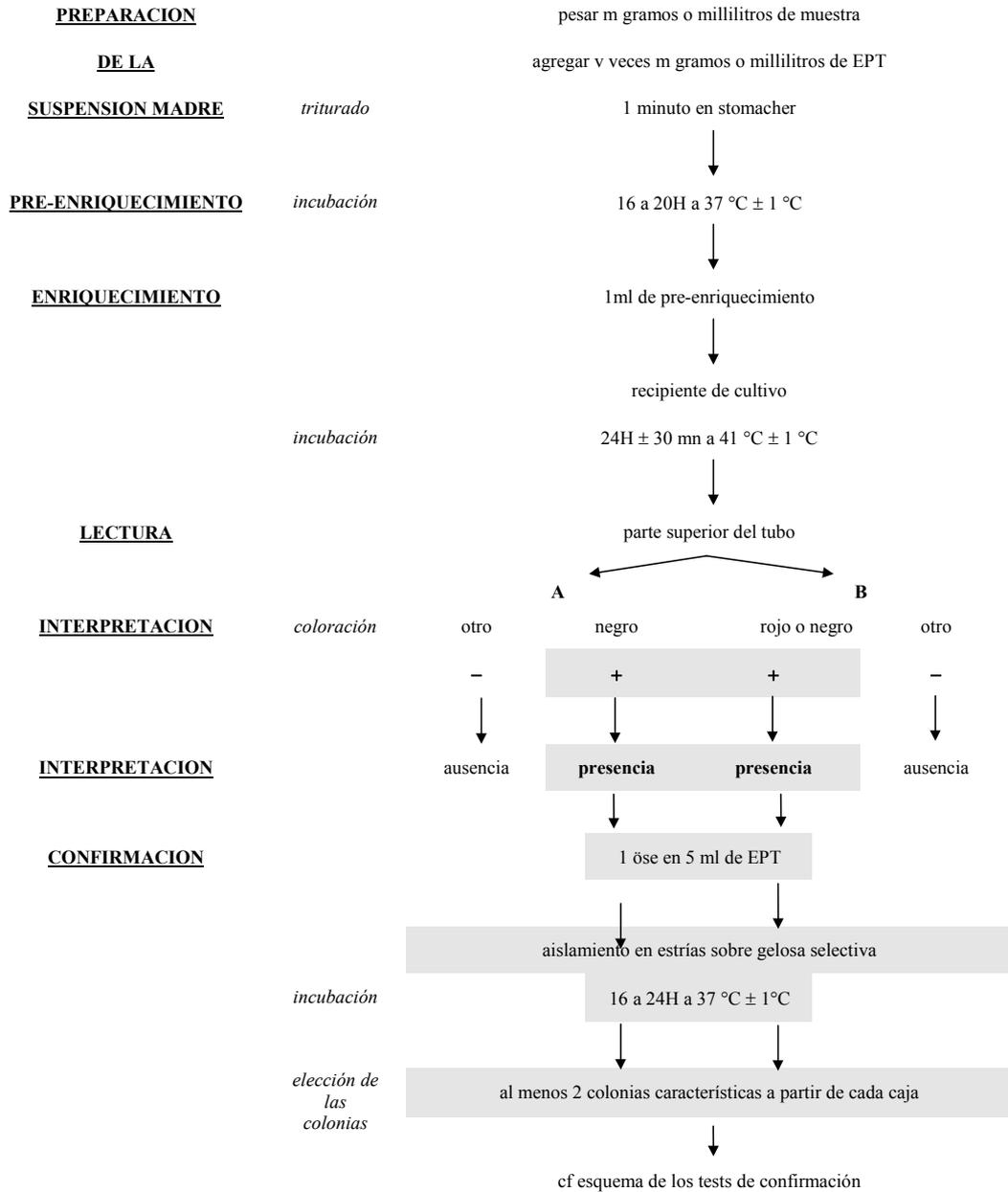
8.5. Resultados

Según los resultados de la interpretación de los tests bioquímicos y serológicos, el resultado se expresa de la manera siguiente:

- Presencia de *Salmonella* en m gramo(s) o ml de producto.
- Ausencia de *Salmonella* en m gramo(s) o ml de producto.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

Esquema del modo de operar



CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL

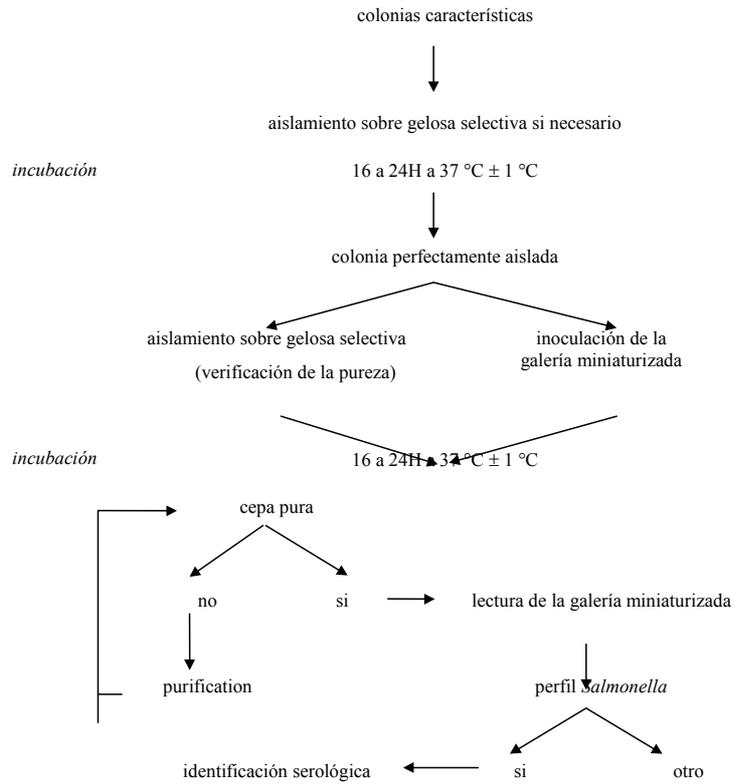
Control bacteriológico

Esquema de los tests de confirmación

ELECCION DE LAS COLONIAS

PURIFICACION

IDENTIFICACION BIOCHIMIQUE

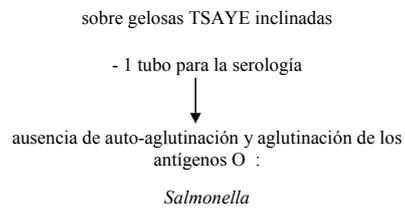


IDENTIFICACION

SEROLOGICA

repicados

serologiae



CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

Esquema de las interpretaciones bioquímicas y serológicas.

Reacciones bioquímicas	Auto-aglutinación	Reacciones serológicas	Interpretación
típicas	no	antígeno «O» positivo	<i>Salmonela</i>
típicas	no	reacciones negativas	envío a un centro autorizado
típicas	si	no efectuadas	para determinación del serotipo

9. Recuento de los *Escherichia coli* por conteo de las colonias obtenidas a 44 °C

9.1. Principio

Se realiza una inoculación en profundidad en gelosa Rapid *E.coli* en caja de Petri para cada una de las diluciones seleccionadas. Luego de una incubación de 24 H a 44 °C, se hace un recuento de todas las colonias características que aparecen.

9.2. Material de laboratorio y condiciones analíticas

Las puestas en cultivo son realizadas en la zona de esterilidad asegurada por el mechero Bunsen.

Cajas de Petri estériles en material plástico de 90 milímetros de diámetro.

Tubos de ensayo estériles de vidrio 16 x 160 algodónados.

Porta tubos

Pipetas estériles en material plástico de 2 ml graduadas en 0,1 ml.

Baño de agua a 100 °C ± 2 °C.

Baño de agua a 47 °C ± 2 °C.

Agitador de tubos.

Estufa a 44 °C ± 1 °C.

Mechero Bunsen.

Contador de colonias.

9.3. Reactivos

Diluyente estéril para diluciones decimales: triptona sal (TS)

Tubos 16 x 160 estériles pre-rellenados con 9ml de TS estéril

Gelosa Rapid *E.coli* en sobrefusión (R.EC)

9.4. Modo de operar

9.4.1 El medio gelosado

- Derretir la gelosa R.EC en baño de agua a 100 °C evitando todo sobrecalentamiento.
- Jamás utilizar un medio de cultivo a una temperatura superior a 50 °C.
- Para una utilización inmediata, mantener la gelosa en baño de agua a 47 °C ± 2 °C.

- No mantener una sobrefusión de más de 8H.
- Para una utilización diferente, mantener la gelosa en sobrefusión en estufa a $55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Los medios de cultivo derretidos y no utilizados dentro de 8H no serán jamás resolidificados para una utilización posterior.

9.4.2 Puesta en cultivo

- Homogeneizar cada dilución antes de la inoculación en las cajas de Petri y antes de realizar las diluciones decimales.
- Transferir 1 ml, de la suspensión madre o de las diluciones decimales retenidas en las cajas de Petri respectivas, cambiando la pipeta a cada dilución.
- Introducir, como máximo 20 minutos después del inóculo, 15 a 20 ml de R.EC mantenida en baño de agua a $47\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Homogeneizar suavemente por agitación.
- Dejar solidificar sobre la mesa de laboratorio (tapa por encima).
- Verter 4 a 5 ml de R.EC mantenida en baño de agua a $47\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Dejar solidificar sobre la mesa de laboratorio (tapa por encima).
- Dar vuelta las cajas e incubar inmediatamente en estufa $24\text{H} \pm 2\text{H}$ a $44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9.4.3 Recuento

Las cajas que contengan entre 15 y 150 colonias características en dos diluciones sucesivas son retenidas para el recuento.

Si solamente la caja inoculada con 1ml de la primera dilución contiene colonias características y en cantidad inferior a 15, ella será utilizada para el recuento.

Las colonias características son contadas con ayuda de un contador o manualmente después de $24\text{H} \pm 2\text{H}$ de incubación.

9.5. Resultados

9.5.1 Caso general

Las cajas contienen entre 15 y 150 colonias características, en dos diluciones sucesivas.

9.5.1.1 Modo de cálculo

Las 2 cajas seleccionadas presentan entre 15 y 150 colonias características. El número N de microorganismos contados a 44,5

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

°C por mililitro o por gramo de producto es obtenido calculando el promedio ponderado sobre las dos cajas seleccionadas.

$$N = \frac{\sum c}{1,1d}$$

$\sum c$: suma de las colonias características contadas en las 2 cajas seleccionadas

d : índice de dilución correspondiente a la primera dilución

9.5.1.2 Expresión de los resultados

- redondear el número N a dos cifras significativas
- Expresar en potencia de 10

ej. : $1,6 \cdot 10^3$ / g o ml

9.5.2 Estimación de las pequeñas cantidades

Si la caja insembrada con 1 ml de la 1^{era} dilución elegida para el análisis contiene menos de 15 colonias características, expresar el resultado de la manera siguiente:

$$N = c \frac{1}{d}$$

c : suma de las colonias características contadas

d : índice de dilución

Si la caja inoculada con 1 ml de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis no contiene ninguna colonia, expresar el resultado de la manera siguiente:

$$N = < 1 \frac{1}{d} \text{ microorganismo por g o ml}$$

d : índice de dilución

10. Recuento de los estafilococos con coagulasa positiva por conteo y confirmación de las colonias obtenidas a 37 °C

10.1. Principio

A partir de la muestra (producto líquido) o de la solución madre (otros productos), se realizan diluciones decimales y, paralelamente, se inocula en superficie 1 gelosa Baird Parker previamente vertida en la caja de Petri con cada una de las diluciones seleccionadas.

Después de una incubación de 48 H a 37 °C las colonias características y/o no características aparecidas son contadas y luego confirmadas por el test de la coagulasa.

10.2. Material de laboratorio y condiciones analíticas

Las puestas en cultivo son realizadas en la zona de esterilidad asegurada por el mechero Bunsen.

- Tubos de ensayo estériles en vidrio 16 x 160 algodónados.
- Tubos de hemolisis estériles en material plástico con tapón en plástico
- Portador de tubos.
- Pipetas estériles en material plástico de 2 ml graduadas en 0,1 ml.
- Igualadores estériles en material plástico.
- Pipetas Pasteur estériles.
- agitador de tubos.
- estufa a 37 °C ± 1 °C.
- mechero Bunsen.
- Contador de colonias.

10.2.1 Reactivos

- Diluyente estéril por diluciones decimales: triptona sal (TS).
- tubos 16 x 160 estériles rellenos previamente con 9ml de TS estéril.
- gelosa Baird Parker vertida previamente en caja de Petri.
- tubos estériles rellenos previamente con 5ml de caldo cerebro corazón.
- plasma de conejo liofilizado a rehidratar en el momento del empleo.

10.2.2 Modo de operar

10.2.2.1 Puesta en cultivo

- Secar las cajas de gelosa en una estufa a 46 °C ± 1 °C hasta desaparición completa de las gotas en la superficie del medio (sin tapa y con la superficie de la gelosa vuelta hacia abajo)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

- Homogeneizar cada dilución antes de inoculación en la superficie de las cajas gelosadas y antes de la realización de las diluciones decimales
- Poner 0,1 ml, de la suspensión madre y/o de las diluciones decimales seleccionadas en la superficie de la gelosa, cambiando de pipeta a cada dilución.
- Extender cuidadosamente el inóculo lo más rápido posible con un igualador, sin tocar los bordes de la caja.
- Dejar las cajas, con la tapa cerrada, 15 minutos a temperatura ambiente.
- Incubar en la estufa $48\text{H} \pm 2\text{H}$ a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$

10.2.2.2 Recuento

Las cajas que contengan menos de 150 colonias características y no características a nivel de dos diluciones sucesivas son seleccionadas, pero una de ellas debe contener al menos 15 colonias. Las colonias características y no características son contadas ya sea con un contador o manualmente.

colonias características después de $48\text{H} \pm 2\text{H}$ de incubación :

- Negras o grises, brillantes y convexas, cuyo diámetro es como mínimo de 1 mm y como máximo de 2,5 mm rodeadas de un halo claro y de precipitación.

colonias no características después de $48\text{H} \pm 2\text{H}$ de incubación:

- Negras y brillantes, con o sin borde blanco estrecho con halos de claridad y de precipitación ausentes o apenas visibles.
- Grises desprovistos de zona clara.

10.2.2.3 Confirmación

Extraer 3 colonias características o tres colonias de cada tipo (característica o no característica) y someterlas al test de la coagulasa.

Test de la coagulasa :

Cultivo en caldo:

- Extraer una parte de la colonia seleccionada con una pipeta Pasteur esterilizada con la llama del mechero Bunsen e inocularla en un caldo cerebro corazón.

- Repetir esta manipulación con las otras colonias seleccionadas.
- Identificar los tubos por el n° de muestra y su dilución con un marcador azul para las colonias características y un marcador verde para las colonias no características.
- Incubar a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante $20\text{ a }24\text{H} \pm 2\text{H}$.

b) Búsqueda de la coagulasa libre :

- Agregar 0,5 ml de la cultivo obtenido en caldo cerebro corazón a 0,5 ml de plasma de conejo rehidratado en un tubo para hemolisis estéril e identificar como indicado aquí arriba.
- Repetir esta manipulación para cada cultivo en caldo.
- Incubar 4 a 6H a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.
- Verificar la presencia de un coágulo, si no, examinar el tubo a $24\text{H} \pm 2\text{H}$ de incubación.

10.2.3 Resultados

La coagulasa es considerada como positiva cuando el coágulo ocupa $\frac{3}{4}$ del volumen inicialmente ocupado por el líquido.

10.2.3.1 Caso general

Las cajas contienen un máximo de 150 colonias características y/o no características.

Modo de cálculo :

- Cantidad de estafilococos con coagulasa positiva por cada caja: *a*

$$a = \frac{b^c}{A^c} \times c^c + \frac{b^{nc}}{A^{nc}} \times c^{nc}$$

- A^c es la cantidad de colonias características trasplantadas;
- A^{nc} es la cantidad de colonias no características trasplantadas;
- b^c es la cantidad de colonias características de Estafilococos coagulasa positiva;
- b^{nc} es la cantidad de colonias no características de Estafilococos coagulasa positiva
- c^c es la cantidad total de colonias características de Estafilococos coagulasa positiva en la caja seleccionada;
- c^{nc} es la cantidad total de colonias no características de Estafilococos coagulasa positiva en la caja seleccionada.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control bacteriológico

Redondear el valor obtenido al número entero más próximo.

- Cantidad de *Estafilococos coagulasa positiva* en la toma de ensayo: N

Es el promedio ponderado, calculado de la manera siguiente a partir de dos diluciones sucesivas retenidas:

$$N = \frac{\sum a}{1,1 \times F} \times 10 \text{ Estafilococos coagulasa positiva por g o ml}$$

$\sum a$: suma de las colonias de *Estafilococos coagulasa positiva* identificados en las dos cajas seleccionadas

F: índice de dilución correspondiente a la 1^{era} dilución seleccionada.

Expresión de los resultados :

- redondear el número N a dos cifras significativas
- expresar en potencia de 10

ex.:	valor obtenido	valor redondeado	resultado
	36364	36000	$3,6 \cdot 10^4$

10.2.3.2 Estimación de las pequeñas cantidades:

Si la caja inoculada con 0,1 ml de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis contiene menos de 15 colonias, el resultado se expresa de la manera siguiente:

$$N = a \frac{1}{d} \times 10 \text{ Estafilococos coagulasa positiva por g o ml}$$

a : cantidad de *Estafilococos coagulasa positiva* identificados.

d : índice de dilución de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis.

Si la caja inoculada con 0,1 ml de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis no contiene ningún *Estafilococo coagulasa positiva*, expresar el resultado de la manera siguiente :

$$N < \frac{1}{d} \times 10 \text{ Estafilococos coagulasa positiva por g o ml}$$

d :Índice de dilución de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis.

11 - Recuento de los coliformes por conteo de las colonias obtenidas a 30 °C

11.1. Principio

Se realiza una insemnación en profundidad en gelosa lactosada con bilis al cristal violeta y al rojo neutro (VRBL) en caja de Petri para cada una de las diluciones seleccionadas. Luego de una incubación de 24H a 30 °C se cuentan todas las colonias características aparecidas.

11.2. Material de laboratorio y condiciones analíticas

Las puestas en cultivo son realizadas en la zona de esterilidad asegurada por el mechero Bunsen.

- Cajas de Petri estériles en material plástico, diámetro 90 milímetros.
- Tubos de ensayo estériles en vidrio 16 x 160 algodónados.
- Tubos de hemolisis estériles en material plástico
- Portador de tubos.
- Pipetas estériles en material plástico de 2 ml graduadas en 0,1 ml.
- Baño de agua (BM) a 47 °C ± 2 °C
- Agitador de tubos.
- Estufa a 30 °C ± 1 °C.
- Estufa a 55 °C ± 1 °C
- Mechero Bunsen.
- Contador de colonias

11.3. Reactivos

- Diluyente estéril para diluciones decimales: triptona sal (TS)
- Tubos de 16 × 160 estériles rellenos previamente con 9ml de TS estéril
- Gelosa lactosada con bilis al cristal violeta y al rojo neutro (VRBL) en sobrefusión.

11.4. Modo de operar

11.4.1 El medio gelosado

- Desde su preparación mantener la gelosa VRBL en surfusión en baño de agua a 47 °C ± 2 °C (utilización inmediata).

- No utilizar jamás un medio de cultivo a una temperatura superior a 50 °C.
- No mantener una sobrefusión de más de 8H.
- Para una utilización diferida mantener la gelosa en sobrefusión en la estufa a 55 °C ±1 °C.
- Los medios de cultivo fundidos y no utilizados en las 8H no serán jamás resolidificados para una utilización posterior.

11.4.2 Puesta en cultivo

- Homogeneizar cada dilución antes de la inoculación en las cajas de Petri y antes de la realización de las diluciones decimales.
- Transferir 1 ml, de la suspensión madre y/o de las diluciones decimales seleccionadas en las cajas de Petri respectivas cambiando de pipeta a cada dilución.
- Introducir como máximo 20 minutos después del inóculo, 15 a 20 ml de VRBL mantenida en baño de agua a 47 °C ± 2 °C
- Homogeneizar suavemente por agitación.
- Dejar solidificar sobre la mesa de laboratorio (tapa por encima)
- Verter alrededor de 5 ml de VRBL mantenida en baño de agua a 47 °C ± 2 °C
- Dejar solidificar sobre la mesa de laboratorio (tapa por encima)
- Dar vuelta las cajas e incubar inmediatamente en la estufa 24H ± 2H a 30 °C ±1°C

11.4.3 Recuento

Las cajas conteniendo menos de 150 colonias características o no características en dos diluciones sucesivas son seleccionadas; pero una de ellas debe contener al menos 15 colonias características.

Si solamente la caja inoculada con 1ml de la 1era dilución contiene colonias características y en cantidad inferior a 15, ella será seleccionada para el recuento.

Las colonias características son contadas con un contador o manualmente.

colonias características después de 24H ± 2H de incubación -
colonias violáceas rodeadas, a veces de una zona rojiza
(precipitación de la bilis)
- diámetro ≥ 0,5 mm

11.5. Resultados

11.5.1 Caso general

Las cajas contienen menos de 150 colonias características o no, en dos diluciones sucesivas pero una de ellas contiene menos de 15 colonias características.

Modo de cálculo :

La cantidad N de microorganismos contada a 30 °C por mililitro o por gramo de producto es obtenida calculando el promedio ponderado sobre las 2 cajas seleccionadas.

$$N = \frac{\sum c}{1,1d}$$

$\sum c$: suma de las colonias características contadas sobre las 2 cajas retenidas

d : índice de dilución correspondiente a la 1^{era} dilución.

expresión de los resultados :

- redondear el número N a dos cifras significativas
 - expresar en potencia de 10
- ej. : 1,6 10³ / g o ml

11.5.2 Estimación de las pequeñas cantidades

Si la caja inoculada con 1 ml de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis contiene menos de 15 colonias características, el resultado se expresa de la manera siguiente:

$$N = c \frac{1}{d}$$

c : suma de las colonias características contadas

d : índice de dilución

Si la caja inoculada con 1 ml de la 1^{era} dilución seleccionada para el análisis no contiene ninguna colonia, el resultado se expresa de la manera siguiente:

$$N = < 1 \frac{1}{d} \text{ microorganismos por g o ml}$$

d : índice de dilución.

**ANÁLISIS DE CONTROL DE LOS GASES POR CROMATOGRFIA
GASEOSA**

1. PRINCIPIO

Los gases son controlados por cromatografía en fase gaseosa con ayuda de una columna de tipo "tamiz molecular" y detección por catarómetro o ionización de llama.

2. EXTRACCION

Utilizar a elección:

- un frasco de acero inoxidable de muestreo para gas
- una bolsa de muestreo para gas de teflón.

3. MODO DE INYECCION

Utilización de una válvula de gas no calentada, equipada con un bucle de 250 µl.

4. SEPARACION DE LOS GASES LIVIANOS, H₂, O₂, N₂, CO, CH₄.

4.1 Columna (como ejemplo)

Fase : Tamiz molecular Chromosorb 101, Porapak Q
diámetro de las partículas: 5µm
granulometría: 80 a 100 mesh
Dimensiones : Largo: 2 m, diámetro interior : 2 mm.

4.2 Gas vector

Helio (He), flujo : 3 ml/mn

4.3 Temperatura del horno : 40 °C isotérmico

4.4 Detector: Catarómetro, Intensidad 190 µA

5. SEPARACION DE LOS HIDROCARBUROS LIVIANOS

5.1 Columna (como ejemplo)

Tipo macroboro

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Control de los gases

Fase : apolar, diámetro de las partículas : 5 μ m
Largo: 30 m, diámetro interior: 0,53 mm

5.2 Gas vector

Naturaleza : Helio, Flujo : 3 ml/min

Temperatura del horno 35 a 200 °C aumentada: 10 °C/min

5.3 Detector : Ionización de llama, temperatura 220 °C.

DOSIFICACION DEL CROMO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPE

Se dosifica el cromo por espectrofotometría de absorción atómica

2. APARATOS

2.1 Parámetros experimentales (datos a título de ejemplo)

(Espectrofotómetro de absorción atómica)

longitud de onda: 357,9 nm

lámpara de cátodo hueco (Chrome)

ancho de la hendidura: 0,2 nm

intensidad de la lámpara: 7 mA

corrección del fondo continuo por efecto Zeeman

introducción en caliente de las muestras en el
horno grafito

medida de la señal : en altura de pico

duración de la medición: 1 segundo

cantidad de mediciones por muestra: 2

tubo de grafito pirolítico:

horno de grafito pirolítico conteniendo una plataforma de
L'Vov tantalizada

tantalización de la plataforma (ver a ut supra

gases inertes : mezcla argón-hidrógeno (95% ; 5 %)

parámetros del horno:

étapa	temperatura (° C)	duración (s)	flujo de gas (l / mn)	tipo de gas	lectura de la señal
1	85	5	3,0	argón+hidrógeno	no
2	95	40	3,0	argón+hidrógeno	no
3	120	10	3,0	argón+hidrógeno	no
4	1000	5	3,0	argón+hidrógeno	no
5	1000	1	3,0	argón+hidrógeno	no
6	1000	2	0,0	argón+hidrógeno	no
7	2600	1,2	0,0	argón+hidrógeno	si
8	2600	2	0,0	argón+hidrógeno	si
9	2600	2	3,0	argón+hidrógeno	no
10	75	11	3,0	argón+hidrógeno	no

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Cromo

2.2 Regulación del muestreador automático
(datos a título de ejemplo)

	volúmenes inyectados en μ l		
	solución de cromo de 50 μ g/l	blanco	modificación de matriz
blanco	0	17	3
patrón N° 1 à 50 μ g/l	5	12	3
patrón N° 2 à 100 μ g/l	10	7	3
patrón N° 3 à 150 μ g/l	15	2	3
muestra a dosificar	5	12	3

3. REACTIVOS

3.1 agua desmineralizada pura para análisis

3.2 ácido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 cloruro de paladio anhidro (59 % en Pd)

3.4 nitrato de magnesio hexahidratado puro para análisis

3.5 Dihidrógenofosfato de amonio

3.6 Modificador de matriz : mezcla de cloruro de paladio y de nitrato de magnesio (disolver 0,25 g de PdCl₂ y 0,1 g de Mg(NO₃)₂.6H₂O en 50 ml de agua desmineralizada) dihidrógenofosfato de amonio de 6% (disolver 3 g de NH₄H₂PO₄ en 50 ml de agua desmineralizada).

3.7 agente reductor : ácido L-ascórbico en solución de 1 % m/v.

3.8 solución madre de cromo de 1 g/l, comercial o preparada de la manera siguiente : disolver 7,6952 g de Cr(NO₃)₃.9H₂O en una solución de HNO₃ 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO₃ 0,5 M

3.9 solución de cromo de 10 mg/l : colocar 1 ml de solución madre en un matraz aforado de 100 ml, agregar 5 ml de ácido nítrico de 65 % y completar el volumen con agua desmineralizada.

3.10 gama de calibración: 0, 50, 100 et 150 μ g/l de cromo (ver cuadro: regulación del muestreador automático).

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

4.1 Caso de los productos enológicos líquidos o en solución

Las preparaciones son realizadas manual o automáticamente siguiendo los datos del cuadro «regulación del muestreador automático».

4.2 Caso de los productos enológicos bajo forma sólida

Proceder a una mineralización por vía húmeda. Hacer un blanco.

5. MODO DE OPERAR

Pasar cada solución de la gama por orden creciente de la concentración de cromo;

pasar 2 veces cada muestra y calcular los contenidos de cromo teniendo en cuenta la toma de ensayo.

DOSIFICACION DEL HIERRO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

El hierro se dosifica por espectrofotometría de absorción atómica en llama.

2. APARATOS

2.1 Parámetros instrumentales: (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica

llama: aire-acetileno oxidante

lámpara de cátodo hueco (hierro)

longitud de onda : 248,3 nm

ancho de la hendidura : 0,2 nm

intensidad de la lámpara : 5 mA

no de corrige la absorción no específica.

3. REACTIVOS

3.1 agua desmineralizada pura para análisis

3.2 solución de hierro de 1 g/l, comercial o preparada de la manera siguiente : disolver 7,2336 g de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en una solución de HNO_3 0,5 M ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

3.3 solución de hierro de 100 mg/l

colocar 10 ml de la solución madre de hierro en un matraz aforado de 100 ml, completar con agua desmineralizada pura para análisis

3.4 gama de calibración: 2, 4, 6, 8 mg/l de hierro

colocar sucesivamente 1,0, 2,0, 3,0 y 4,0 ml de la solución a 100 mg/l de hierro en 4 matraces aforados de 50 ml; completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis

realizar un blanco sin hierro en las mismas condiciones.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

4.1 Caso de los productos enológicos líquidos o en solución

Se diluye cada muestra con agua desmineralizada para obtener una concentración comprendida entre 0 y 8mg/l

4.2 Caso de los productos enológicos bajo forma sólida

proceder a una mineralización por vía seca.

poner en cada solución de la gama patrón la misma cantidad de ácido utilizado para la puesta en solución de

las cenizas ; cada muestra se diluye con agua desmineralizada, para obtener una concentración de hierro comprendida entre 0 y 8 mg/l.

5. MODO DE OPERAR

Pasar sucesivamente las soluciones de calibración y el blanco que será agua desmineralizada o una solución agua-ácido con las concentraciones utilizadas para las muestras de productos enológicos sólidos mineralizados por vía seca y eventualmente diluir.

**DOSIFICACION DEL MERCURIO POR GENERACION DE VAPOR
Y ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCENCIA ATOMICA
(Oeno 18/2003)**

1 – CAMPO DE APLICACION

El presente método se aplica al análisis del mercurio en los productos enológicos en la gama de concentración de 0 a 10 µg/l.

2 – DESCRIPCION DE LA TECNICA

2.1. Principio del método

2.1.1. Mineralización por vía húmeda del producto enológico a analizar.

2.1.2. Reducción del permanganato no consumido por el clorhidrato de hidroxilamina.

2.1.3. Reducción del mercurio II en mercurio metal por cloruro de estaño(II).

2.1.4. Acarreamiento del mercurio por una corriente de argón, a temperatura ambiente.

Dosificación del mercurio en estado de vapor monoatómico por espectrometría de fluorescencia atómica, a una longitud de onda de 254 nm : los átomos de mercurio se excitan por medio de una lámpara a vapor de mercurio; los átomos excitados de esta manera reemiten una radiación llamada de fluorescencia que permite cuantificar el mercurio presente con un detector fotónico colocado a 90° en relación al haz de excitación; la detección por fluorescencia atómica permite obtener una buena linealidad y elimina los efectos de memoria.

2.2. Principio del análisis (figura nº1)

La pompa peristáltica aspira la solución de cloruro de estaño(II), el blanco (agua desmineralizada conteniendo 1 % de ácido nítrico) y el patrón o la muestra mineralizada.

El mercurio metal es arrastrado, en el separador gas-líquido, por una corriente de argón.

Luego del pasaje en la cápsula de un desecante, el mercurio es detectado por fluorescencia.

Luego, la corriente gaseosa pasa a una solución de permanganato de potasio para retener el mercurio.

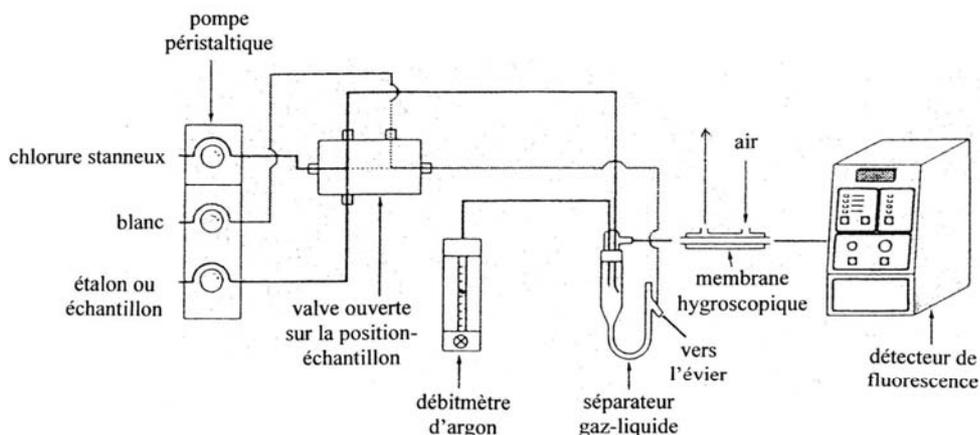


Figure n°1. Chaîne analytique pour doser le mercure

3 -REACTIVOS Y PREPARACION DE LAS SOLUCIONES REACTIVAS

3.1. **Agua desmineralizada ultra pura**

3.2. **Acido nítrico ultra puro de 65 %**

3.3. **Blanco : agua desmineralizada** (3.1.) conteniendo 1 % de ácido nítrico (3.2.)

3.4. **Solución de ácido nítrico 5,6 M** : introducir 400 ml de ácido nítrico (3.2.) en un matraz de 1000 ml ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

3.5. **Acido sulfúrico** (d = 1,84)

3.6. **Solución de ácido sulfúrico 9 M** : introducir 200 ml de agua desmineralizada (3.1.) en un matraz de 1000 ml, luego 500 ml de ácido sulfúrico (3.5.) ; después de enfriar, completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

3.7. **Permanganato de potasio** KMnO_4

3.8. **Solución de permanganato de potasio de 5 %** : disolver, con el agua desmineralizada (3.1.), 50 g de permanganato de

potasio (3.7.) en un matraz de 1000 ml ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

3.9. **Clorhidrato de hidroxilamina** $\text{NH}_2\text{OH}, \text{HCl}$

3.10. **Solución reductora** : pesar 12 g de clorhidrato de hidroxilamina (3.9.) y disolverlos en 100 ml de agua desmineralizada (3.1.).

3.11. **Cloruro de estaño II** ($\text{SnCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$)

3.12. **Acido clorhídrico concentrado**

3.13. **Solución de cloruro de estaño(II)** : pesar 40 g de cloruro de estaño (3.11.) y disolverlos en 50 ml de ácido clorhídrico (3.12.) ; completar a 200 ml con agua desmineralizada (3.1.).

3.14. **Solución madre de mercurio de 1 g/l** preparada por disolución de 1,708 g de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, en 1 l de solución de HNO_3 de 12 % m/m.

3.15. **Solución patrón de mercurio de 10 mg/l**, conteniendo 5 % de ácido nítrico y preparada a partir de la solución madre de 1 g/l (3.14).

3.16. **Solución de mercurio de 50 $\mu\text{g/l}$** : colocar 1 ml de la solución de 10 mg/l (3.14.) en un matraz de 200 ml ; agregar 2 ml de ácido nítrico (3.2.) ; completar el volumen con agua desmineralizada (3.1.).

4 – APARATOS

4.1. Material de vidrio :

4.1.1. matraces aforados de 100, 200 y 1000 ml (clase A)

4.1.2. pipetas aforadas de 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 5 ; 10 y 20 ml (clase A)

4.1.3. precauciones : antes de cada utilización, el material de vidrio debe ser lavado con ácido nítrico de 10 %, dejado en contacto durante 24 heures, luego enjuagado con agua desmineralizada.

4.2. **Aparato de mineralización** (figura n°2)

4.3. **Calentador de matraz con termostato**

4.4. **Bomba peristáltica**

4.5. Generador de vapor frío

4.5.1. separador gas-líquido

4.6. **Desecante** (membrana higroscópica) recorrido por una corriente de aire (proveniente de un compresor) y colocado antes del detector

4.7. Espectrofluorímetro :

4.7.1. lámpara a vapor de mercurio, regulada a la longitud de onda de 254 nm

4.7.2. detector específico de fluorescencia atómica

4.8. Micro-ordenador :

4.8.1. programa informático que regule los parámetros del generador de vapor y del detector de fluorescencia atómica y que permita la calibración y la explotación de los resultados.

4.8.2. impresora que archive los resultados

4.9. Botella de gas neutro (argón)

5 - PREPARACION DE LA GAMA DE CALIBRACION Y DE LAS MUESTRAS

5.1. Gama de calibración : 0 ; 0,25 ; 0,5 y 1,0 µg/l

Introducir 0 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ml de la solución de mercurio de 50 µg/l (3.15.) en 4 matraces de 100 ml ; agregar 1 % de ácido nítrico (3.2.) ; completar al volumen con agua desmineralizada (3.1.).

5.2. Muestras

Mineralizar las muestras por vía húmeda La toma de ensayo es introducida en el matraz con fondo redondo de vidrio borosilicatado, colocado sobre un disco perforado y cuyo cuello se mantiene inclinado.

Agregar 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R) y 10 ml de ácido nítrico concentrado (R) y calentar progresivamente. Cuando la mezcla tiende oscurecerse, agregar una pequeña cantidad de ácido nítrico continuando el calentamiento y así sucesivamente hasta que el líquido quede incoloro y que la atmósfera del matraz se llene de humo blanco SO₃. Dejar enfriar, retomar con 10 ml d'eau distillée y calentar de nuevo para eliminar los vapores

nitrosos hasta que se disipe el humo blanco. Se recomienda efectuar esta operación una segunda vez. Luego de una tercera reanudación, hacer hervir un instante, enfriar, estabilizar con algunas gotas (alrededor de 10) de permanganato de potasio (sol. acuosa) de 5 p. 100 (m/m) y llevar el líquido a 40 ml con agua.

Filtrarlas con filtros sin ceniza. Introducir 10 ml de filtrado en un matraz de 50 ml. Agregar permanganato de potasio (3.8.) hasta persistencia de la coloración. Solubilizar el precipitado (MnO_2) con la solución reductora (3.10.). Completar al volumen con agua desmineralizada (3.1.).

Hacer un ensayo de blanco con agua desmineralizada.

6 – MODO DE OPERAR

6.1. Determinación analítica

Encender el fluorímetro ; el aparato se estabiliza luego de 15 minutos.

La bomba peristáltica aspira el blanco (3.3.), la solución de cloruro de estaño(II) (3.13.) y los patrones o las muestras (5.1.) o (5.2.).

Verificar que aparecen burbujas en el separador gas-líquido.

Presentar sucesivamente las soluciones de calibración (5.1.) ; activar la programación del generador de vapor. El programa del ordenador establece la curva de calibración (porcentaje de fluorescencia en función de la concentración de mercurio en $\mu g/l$).

Presentar a continuación las muestras (5.2.).

6.2. Autocontroles

Cada cinco determinaciones, se analiza un blanco analítico y un patrón con el fin de corregir una eventual deriva del espectrofluorímetro.

7 – EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Los resultados son obtenidos a través del programa del ordenador y expresados en en ppb (o $\mu g/l$).

La concentración de mercurio en los productos enológicos es calculada en función de la toma de ensayo y de la dilución del mineralizado. Ella se expresa en µg/kg.

8 – CONTROL DE LOS RESULTADOS

El control de calidad se realiza colocando, luego de la gama de calibración y cada cinco muestras, un material de referencia del cual se conoce con certeza el contenido en mercurio.

Se establece una carta de control para cada material de referencia utilizado. Los límites de control fueron fijados : $\pm 2S_R$ intra (S_R intra : desviación tipo de reproductibilidad).

10 – BIBLIOGRAFIA

- 10.1. CAYROL M., BRUN S., 1975. Dosage du mercure dans les vins. Feuille Vert de l'O.I.V. n°371.
- 10.2. REVUELTA D., GOMEZ R., BARDON A., 1976. Dosage du mercure dans le vin par la méthode des vapeurs froides et spectrométrie d'absorption atomique. Feuille Vert de l'O.I.V. n°494.
- 10.3. CACHO J., CASTELLS J.E., 1989. Determination of mercury in wine by flameless atomic absorption spectrophotometry. Atomic Spectroscopy, vol. 10, n°3.
- 10.4. STOCKWELL P.B., CORNS W.T., 1993. The role of atomic fluorescence spectrometry in the automatic environmental monitoring of trace element analysis. Journal of Automatic Chemistry, vol. 15, n°3, p 79-84.
- 10.5. SANJUAN J., COSSA D., 1993. Dosage automatique du mercure total dans les organismes marins par fluorescence atomique. IFREMER, Rapport d'activité.
- 10.6. AFNOR, 1997. Dosage du mercure total dans les eaux par spectrométrie de fluorescence atomique. XPT 90-113-2.
- 10.7. GAYE J., MEDINA B., 1998. Dosage du mercure dans le vin par analyse en flux continu et spectrofluorimétrie. Feuille Vert de l'O.I.V. n°1070.

BUSQUEDA DE METALES PESADOS
(Oeno 18/2003)

1 PRINCIPIO DEL METODO

Los metales pesados reaccionan con la función tiol para formar los sulfuros. La coloración que resulta es comparada a un standard

2 REACTIVOS

2.1 Acetato de amonio,

2.2 Nitrato de plomo(II),

2.3 Glicerol,

2.4 Metanol,

2.5 Hidróxido de sodio, solución de 1 mole NaOH /l,

2.6 Acido clorhídrico de 37 %,

2.7 Reactivo tioceramida (R) :

2.8 Solución estándar de plomo :

2.8.1 Solución de plomo de 1000 µg/ml : disolver 1,598 g de nitrato de plomo(II) en el agua y completar a 1000 ml.

2.8.2 Solución de plomo de 10 µg/ml. Agregar 10 ml de la solución 2.8.1 y completar a 1000 ml. A preparar justo antes de su utilización.

2.9 Solución tampón, pH = 3,5 : disolver 6,25 g de acetato de amonio (2.1) en 6 ml de agua, agregar 6,4 ml de ácido clorhídrico (2.6) y diluir en agua hasta 25 ml.

3. MODO DE OPERAR

3.1 Solución test : verter en un matraz aforado de 50 ml 5 ml de solución tampón (2.9), y luego 25,0 g de muestra y alrededor de 15 ml de agua. Completar con agua hasta el trazo de medición.

3.2 Soluciones coloreadas :

3.2.1 Solución muestra : mezclar en un tubo de ensayo 12,0 ml de solución test (3.1) y 2,0 ml de solución tampón (2.9)

3.2.2 Solución comparativa : mezclar en un tubo de ensayos 2,0 ml de solución test (3.1), 2,0 ml de solución tampón (2.9), 0,5 ml de solución estándar de plomo (2.8.2), 4,5 ml de agua y 5,0 ml de metanol.

3.2.3 Solución de control : mezclar en un tubo de ensayo 12,0 ml de solución test (3.1), 2,0 ml de solución tampón (2.9) et 0,5 ml de solución estándar de plomo (2.8.2)

3.2.4. Comparación de las coloraciones :

agregar 1,2 ml de reactivo de tioceramida (2.7) en los 3 tubos de ensayo (3.2.1 a 3), mezclar y esperar 2 minutos. Comparar la coloración en visión vertical a la luz del día.

la solución muestra no debe ser más oscura que la solución comparativa.

la solución de control no debe ser más clara que la solución comparativa.

4. Resultados :

Las condiciones descritas en 3.2.4 se obtienen si el contenido en metales pesados es inferior a 10 mg/l expresado en plomo y con una precisión de 1 mg /l .

**MÉTODOS DE MINERALIZACION DE LAS MUESTRAS
ANTES DE LA DOSIFICACION POR ESPECTROMETRIA DE
ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)**

1. MINERALIZACION POR VIA SECA

Método aplicable para dosificar los elementos siguientes: calcio, magnesio, sodio, hierro, cobre, zinc

1.1 Obtención de las cenizas

Pesar con precisión 5 g de producto enológico (o 1 g en el caso de los productos ricos en materias minerales), en una cápsula de platino o de silicio previamente limpia y con tara.

Quemar lentamente la muestra sobre la llama de un mechero Bunsen, bajo una campana de aspiración.

Poner la cápsula en un horno de mufla a $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas.

Retomar el residuo con algunos ml de agua desmineralizada.

Evaporar el agua sobre un baño de agua a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Colocar nuevamente la cápsula que contiene la muestra en el horno.

La mineralización está terminada cuando las cenizas son blancas.

1.2 Puesta en solución de las cenizas

Las cenizas son solubilizadas con 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (R). Llevar el volumen a 100 ml con agua desmineralizada

Diluciones complementarias:

Diluir nuevamente la solución de cenizas en ácido clorhídrico de manera que sea compatible con la sensibilidad del aparato; ver separadamente el método propio a cada catión.

Para la dosificación del calcio y del magnesio, agregar cloruro de lantano durante esta dilución.

Realizar un blanco.

2. MINERALIZACION POR VIA HUMEDA

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Mineralización

Método aplicable para dosificar los elementos siguientes:
arsénico, cadmio, plomo, en los productos enológicos que contienen agua

2.1 Caso de los productos acuosos

Pesar con precisión, en un tubo de polipropileno de 50 ml, 3 gramos de producto enológico pulverizado, agregar 5 ml de ácido nítrico de 65 % ; cerrar con un tapón de rosca; dejar 12 horas a temperatura ambiente, luego, después de desatornillar el tapón, colocar el tubo en un baño de agua 90 °C durante 3 horas, bajo una campana aspiradora. Dejar enfriar; ajustar el volumen a 20 ml con agua desmineralizada, agitar, filtrar con filtro sin cenizas (si necesario). Realizar el blanco en las mismas condiciones.

2.2 Caso de los productos secos

La mineralización es parecida a la de los productos acuosos, pero utilizando una toma de ensayo de 0,5 g de producto enológico.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Nickel

DOSIFICACION DEL NICKEL
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

El nickel se dosifica directamente por espectrometría de absorción atómica sin llama (atomización electro-térmica).

2. APARATOS

2.1 Parámetros instrumentales: (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador con tubo de grafito.

longitud de onda : 232,0 nm

lámpara de cátodo hueco(nickel)

largeur de la fente : 0,2 nm

intensidad de la lámpara : 4 mA

corrección de fondo continuo por efecto Zeeman

introducción en caliente de las muestras en el horno-grafito con distribuidor automático

el agua de enjuague contiene 2 gotas de Triton por litro.

medida de la señal : en altura de pico.

duración de la medición : 1 segundo.

Tubo de grafito pirolítico :

horno de grafito pirolítico conteniendo una plataforma de L'Vov tantalizada.

tantalización de una plataforma : ver ut supra.

gases inertes : argón y mezcla de argón + hidrógeno (95% : 5%).

parámetros del horno :

Parámetros del horno para la dosificación del nickel

etapa n°	temperatura (°C)	duración (s)	flujo de gas (l/mn)	tipo de gas	lectura de la señal
1	85	5,0	3,0	argón	no
2	95	40,0	3,0	argón	no
3	120	10,0	3,0	argón	no
4	800	5,0	3,0	argón	no
5	800	1,0	3,0	argón	no
6	800	2,0	0	argón	no
7	2 400	1,1	0	argón + hidrógeno	si
8	2 400	2,0	0	argón + hidrógeno	si
9	2 400	2,0	3,0	argón	no
10	75	11,0	3,0	argón	no

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL

Nickel

2.2 Regulación del muestreador automático (datos a título de ejemplo)

- *Parámetros del muestreador automático*

	volumen inyectado en μl		
	solución de Ni a $50 \mu\text{g/l}$	blanco	modificador de matriz
blanco		17	3
patrón 1	5	12	3
patrón 2	10	7	3
patrón 3	15	2	3
muestra	5	12	3

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Acido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 Cloruro de paladio anhidro (59 % en Pd)

3.4 Nitrato de magnesio hexahidratado puro para análisis.

3.5 Dihidrógenofosfato de amonio

3.6 Modificador de matriz : mezcla de cloruro de paladio y de nitrato de magnesio (disolver 0,25 g de PdCl_2 y 0,1 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3.4) en 50 ml de agua desmineralizada) o dihidrógenofosfato de amonio de 6% (disolver 3 g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en 50 ml de agua desmineralizada) (3.1).

3.7 Acido L-ascórbico.

3.8 Blanco analítico : solución de ácido L-ascórbico de 1 % (m/v).

3.9 Solución madre de nickel de 1 g/l (1000 $\mu\text{g/ml}$) de comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 4,9533 g de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

4. MODO DE OPERAR

Solución de nickel de 10 mg/l : colocar 1 ml de la solución-madre (3.8) en un matraz aforado de 100 ml, agregar 5 ml de ácido nítrico (3.2); completar el volumen con agua desmineralizada.

Solución de nickel de 50 $\mu\text{g/l}$: colocar 1 ml de la solución de nickel de 10 mg/l en un matraz aforado de 200 ml, 10 ml de ácido nítrico (3.2) y completar con agua desmineralizada.

Gama de calibración: 0, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/l}$ de nickel.

El ciclo del distribuidor automático permite realizar esta calibración sobre la plataforma a partir de la solución de nickel de 50 $\mu\text{g/l}$.

5. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

5.1 Caso de las muestras líquidas o en solución

No es necesaria ninguna preparación o dilución de la muestra ; las muestras se colocan directamente en los cestos del inyector automático.

5.2 Caso de las muestras sólidas

Las muestras sólidas son mineralizadas por vía seca.

6. DETERMINACIONES

El grafo de calibración (absorbancia en función de la concentración de nickel) da la concentración de nickel de las muestras.

DOSIFICACION DEL NITROGENO TOTAL
(Oeno 18/2003)

1. APARATO

1.1 El aparato utilizado para separar NH_3 es o bien un aparato de destilación con columna rectificadora, o bien un aparato a vapor de agua constituido por (esquema):

Un balón **A** de 1 l vidrio borosilicatado que cumple la función de caldera, con un embudo con grifo para el rellenado. Puede ser calentado por un horno a gas o eléctrico.

Una alargadera **C** que recoge el líquido agotado que llega desde el barboteador **B**.

Un barboteador **B** de 500 ml con cuello inclinado; el tubo de llegada debe alcanzar la parte más baja del balón. El tubo de inicio debe tener un matraz anti-arrastre que constituye la parte superior del barboteador. Un embudo E con grifo permite la introducción del líquido a tratar y de la lejía alcalina.

Un refrigerante de 30 a 40 cm de largo, vertical, terminado por un matraz con pico fino.

Un matraz Erlenmeyer de 250 ml para recibir el destilado.

1.2 Matraz de mineralización, balón ovoide de 300 ml, con cuello largo.

2. REACTIVOS

Acido sulfúrico concentrado (R).

Catalizador de mineralización (R).

Solución de hidróxido de sodio de 30 p. 100 (m/m) (R).

Solución de ácido bórico de 4 p. 100 (R).

Solución de ácido clorhídrico 0,1 M.

Indicador mixto de azul de metileno y rojo de metilo (R).

La caldera debe contener agua acidulada por 1 p.1 000 de ácido sulfúrico. Conviene hacer hervir este líquido antes de toda operación, dejando el grifo de purga P abierto para evacuar el CO_2 .

3. MODO DE OPERAR

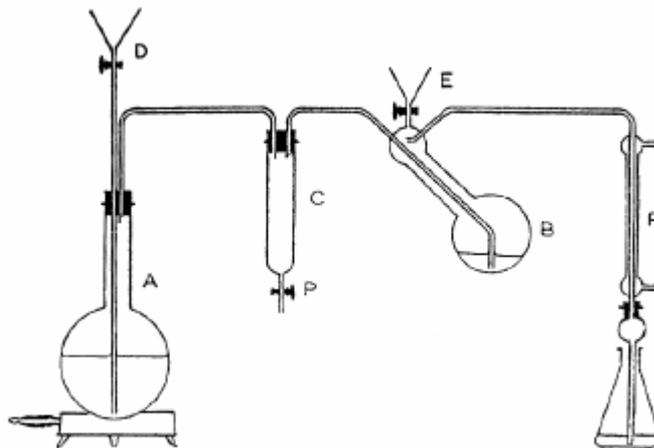
En el matraz de mineralización, introducir la toma de ensayo conteniendo de 4 a 50 mg de nitrógeno. Agregar 5 g de catalizador de mineralización (R) y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado (R), si la cantidad de materia orgánica seca a mineralizar es inferior a 500 mg. Aumentar estas cantidades si se trata de una toma de ensayo más importante de materia orgánica.

Calentar sobre fuego abierto, bajo una campana, el cuello del matraz manteniéndolo inclinado hasta que la solución sea incolora y que las paredes del matraz estén libres de productos carbonizados.

Luego de enfriamiento, diluir con 50 ml de agua y enfriar; introducir este líquido en el barboteador B por el embudo E, agregar a continuación 40 a 50 ml de solución de hidróxido de sodio a 30 p.100 (R), de manera que se obtenga la franca alcalinización del líquido y arrastrar el amoníaco por el vapor, recogiendo el destilado en 5 ml de solución de ácido bórico (R) colocados previamente en el matraz Erlenmeyer receptor con 10 ml de agua, con el extremo de la ampolla dentro del líquido. Agregar 1 o 2 gotas de indicador mixto y recoger 70 a 100 ml de destilado.

Titular el destilado con la solución 0,1 M de ácido clorhídrico hasta que el indicador vire al violeta rosado.

1 ml de solución 0,1 M de ácido clorhídrico corresponde a 1,4 mg de nitrógeno.



Aparato para la destilación del amoníaco
en una corriente de vapor de agua
(Según PARNAS y WAGNER)

Los grifos P y E pueden ser remplazados por un alargador
plástico con pinza de Mohr.

DOSIFICACION DEL PLOMO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

Después de la mineralización de la muestra en medio ácido, el plomo se dosifica por espectrometría sin llama (atomización electro térmica).

2. APARATOS

2.1 parámetros instrumentales: (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador con tubo de grafito
longitud de onda: 283,3 nm
lámpara de cátodo hueco(plomb)
ancho de la hendidura : 0,5 nm
intensidad de la lámpara: 5 mA
corrección del fondo continuo por efecto Zeeman
introducción en caliente de las muestras en el horno grafito por un distribuidor automático (el agua de enjuague contiene 2 gotas de Triton por litro)
medida de la señal : altura del pico
duración de la medición : 1 segundo
cantidad de mediciones por muestra: 2
tubo de grafito pirolítico
horno de grafito pirolítico conteniendo una plataforma de L'Vov tantalizada
(tantalización de una plataforma: ver ut supra).
parámetros del horno

temperatura (° C)	dura- ción (s)	flujo del gas (l / mn)	tipo de gas	lectura de la señal
150	20,0	3,0	argón	no
150	35,0	3,0	argón	no
800	15,0	3,0	argón	no
800	30,0	3,0	argón	no
800	2,0	0,0	argón	no
2250	0,8	0,0	argón	si
2250	1,0	0,0	argón	si
2500	1,0	1,5	argón	no
1200	9,0	3,0	argón	no
75	10,0	3,0	argón	no

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Plomo

2.2 Regulación del muestreador automático
(datos a título de ejemplo)

	volúmenes inyectados en μl		
	solución de plomo de 50 $\mu\text{g/l}$	blanco	modificador de matriz
blanco	0	10	2
patrón N° 1	1	9	2
patrón N° 2	2	8	2
patrón N° 3	3	7	2
patrón N° 4	4	6	2
patrón N° 5	6	4	2
muestra a dosificar	10	0	2

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Acido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 Dihidrógenofosfato de amonio

3.4 Modificador de matriz : dihidrógenofosfato de amonio de 6%.

Introducir 3 g de dihidrógenofosfato de amonio en un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar al volumen con agua desmineralizada.

Solución madre de plomo de 1 g/l del comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 1,5985 g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ puro para análisis en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

Solución de plomo à 10 mg / l : colocar 1 ml de la solución madre de plomo de 1 g/l en un matraz aforado de 100 ml ; agregar 1 ml de ácido nítrico de 65 % y completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

Solución de plomo de 0,1 mg/l : colocar 1 ml de la solución de plomo de 10 mg/l en un matraz aforado de 100 ml, agregar 1 ml d'acide nitrique à 65 %; completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

Gamme d'étalonnage: 0, 50, 100, 150, 200, 300, $\mu\text{g/l}$ de plomo

Le cycle du distributeur automatique permet d'injecter directement ces quantités de plomo sur la plate-forme à partir de la solución de plomo à 0,050 mg/l.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Les muestras líquidas o en solución deben tener concentraciones comprendidas entre 0 y 300 µg/l de plomo.

Les muestras sólidas serán mineralizadas por vía húmeda (ataque con ácido nítrico).

El blanco está constituido por agua pura para análisis conteniendo 1 % de ácido nítrico de 65 %.

5. MODO DE OPERAR

La curva de calibración que representa las variaciones de las absorbancias en función de las concentraciones permite calcular los contenidos de plomo de las muestras.

DOSIFICACION DEL POTASIO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

El potasio se dosifica después de la mineralización por vía seca por espectrometría de absorción atómica.

La adición de un tampón espectral (cloruro de cesio) es necesaria para evitar la ionización del potasio.

2. APARATOS

2.1 Material de vidrio

Matraces aforados de 100 y 200 ml (clase A)

Pipetas aforadas de 1, 2, 4 et 10 ml (clase A)

Vaso de precipitado de 100 ml

2.2 Parámetros instrumentales (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica

Parámetros instrumentales :

llama aire-acetileno oxidante (flujo de aire: 3 l/min; flujo de acetileno : 1,8 l/min.

Lámpara de cátodo hueco (potasio)

longitud de onda : 769,9 nm

ancho de la hendidura : 0,5 nm

intensidad de la lámpara : 7 mA

no se corrige la absorción no específica.

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Cloruro de cesio (CsCl)

3.3 Solución de cloruro de cesio con 5 % de cesio : disolver 6,330 g de cloruro de cesio en 100 ml de agua desmineralizada.

3.4 Solución-madre de potasio de 1 g/l del comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 2,5856 g KNO₃ en el agua, ajustar a 1 l.

3.5 Solución diluida de potasio de 100 mg/l : Colocar 10 ml de la solución-madre de potasio de 1 g/l en un matraz aforado de 100 ml y 1 ml de ácido nítrico puro; completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

3.6 Gama de calibración à 0, 2, 4, 6 y 8 mg de potasio por litro: En una serie de matraces aforados de 100 ml, introducir 0 ; 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 ml de la solución de potasio de 100 mg/l ; agregar en los matraces aforados 2 ml de la solución de cloruro de cesio; ajustar el volumen a 100 ml con agua desmineralizada pura para análisis.

Las soluciones patrón preparadas contienen 1 g de cesio por litro.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

4.1. Productos enológicos bajo forma líquida o en solución

En un matraz aforado de 50 ml, colocar 1 ml de la solución de cloruro de cesio de 5% y un volumen de muestra de tal manera que después de haber completado el volumen con agua desmineralizada la concentración de potasio a medir sea inferior a 8 mg/l.

4.2. Productos enológicos bajo forma sólida

Proceder a una mineralización por vía seca (retomar las cenizas con 2 ml de ácido clorhídrico en un matraz de 100 ml, agregar 2 ml de cloruro de cesio de 5% y completar el volumen con agua desmineralizada).

Realizar un blanco con agua desmineralizada.

5. DETERMINACIONES

Presentar sucesivamente las soluciones de calibración.

Realizar una lectura de la absorbancia durante 10 segundos ; realizar dos mediciones.

Establecer la curva de calibración (absorbancia en función de la concentración en mg/l de potasio).

Presentar a continuación las muestras, hacer una lectura de la absorbancia durante 10 segundos; realizar dos mediciones.

Deducir la concentración de potasio en los productos enológicos en mg/kg.

DOSIFICACION DEL SELENIO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

Après minéralisation de l'échantillon par voie humide, le selenio est dosé par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme (atomisation électro-thermique au four-graphite).

2. APPAREILLAGE

2.1 Verrerie

Fioles jaugées de 50, 100 ml (classe A)

Pipettes jaugées de 1, 5 et 10 ml (classe A)

Tubes en polypropylène de 50 ml, avec bouchon à vis.

2.2 Parámetros instrumentales (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador à tube de graphite.

longitud de onda 196,0 nm

lámpara de cátodo hueco (selenio)

ancho de la hendidura: 1,0 nm.

intensidad de la lámpara : 10 mA

corrección del fondo continuo por efecto Zeeman

introducción en calientedes muestras en le four-graphite, avec un distribuidor automático (agua de enjuague conteniendo dos gotas de Triton por litro).

medida de la señal : en altura de pico

duración de la medición : 1 segundo

cantidad de mediciones por muestra : 2

Tubo de grafito pirolótico :

horno de grafito pirolótico conteniendo una plataforma de L'Vov tantalizada.

tantalización de una plataforma : ver el modo de operar explicado antes en este documento.

gas inerte : argón.

parámetros del horno : ver cuadro I

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Selenio

Cuadro I – Parámetros del horno para la dosificación del selenio

etapa	temperatura (°C)	duración (s)	flujo del gas (l/mn)	tipo de gas	lectura de la señal
1	85	5	3,0	argón	no
2	95	40	3,0	argón	no
3	120	10	3,0	argón	no
4	1 000	5	3,0	argón	no
5	1 000	1	3,0	argón	no
6	1 000	2	0	argón	no
7	2 600	0,8	0	argón	si
8	2 600	2	0	argón	si
9	2 600	2	3,0	argón	no

2.3 Parámetros del muestreador automático (cuadro II)
(datos a título de ejemplo)

Cuadro II – Parámetros del muestreador automático.

	volúmenes inyectados en µl		
	solución	blanco	modificador de matriz
blanco		17	3
patrón n°1 50 µg/l	5	12	3
patrón n°2 100 µg/l	10	7	3
patrón n°3 150 µg/l	15	2	3
muestra	15	2	3

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Acido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 Cloruro de paladio anhidro (59 % en Pd)

3.4 Nitrato de magnesio hexahidratado para análisis

3.5 Dihidrógenofosfato de amonio

3.6 Modificador de matriz : mezcla de cloruro de paladio y de nitrato de magnesio (disolver 0,25 g de PdCl₂ y 0,1 g de Mg(NO₃)₂.6H₂O en 50 ml de agua desmineralizada) o dihidrógenofosfato de amonio de 6% (disolver 3 g de NH₄H₂PO₄ en 50 de agua desmineralizada).

3.7 Solución-madre de selenio a 1 g/l, del comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 1,4052 g SeO_2 en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

3.7 Solución de selenio de 10 mg/l : colocar 1 ml de la solución-madre de 1 g/l en un matraz aforado de 100 ml ; agregar 5 ml de ácido nítrico de 65 % ; completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis

3.8 Solución de selenio de 50 $\mu\text{g/l}$: colocar 0,5 ml de la solución de selenio de 10 mg/l, 5 ml de ácido nítrico de 65 % en un matraz aforado de 100 ml ; completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

3.9 Gama de calibración: 0, 50, 100 et 150 $\mu\text{g/l}$ de selenio.

El ciclo del distribuidor automático permite realizar esta calibración sobre la plataforma a partir de la solución de selenio de 50 $\mu\text{g/l}$.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Pesar con precisión una toma de ensayo de 1 a 3 g en el tubo graduado ; agregar 5 ml de ácido nítrico de 65 %; cerrar con tapón de rosca ; dejar 12 horas a temperatura ambiente ; colocar el tubo en un baño de agua a 90 °C durante 3 horas (los tapones se retiran durante el calentamiento) ; dejar enfriar ; ajustar el volumen 20 ml con agua desmineralizada pura para análisis.

5. DETERMINACIONES

Establecer el grafo de calibración (absorbancia en función de la cantidad de $\mu\text{g/l}$ de selenio) ; determinar la concentración de selenio de las muestras.

Deducir la concentración de selenio en el mineralizado, luego en la muestra en $\mu\text{g/kg}$.

DOSIFICACION DEL SODIO
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1. PRINCIPIO

El sodio se dosifica después de una mineralización por vía seca por absorción atómica.

Es necesaria la adición de un tampón espectral (cloruro de cesio) para evitar la ionización del sodio.

2. APARATOS

2.1 Material de vidrio

Matraces aforados de 50 y 100 ml (clase A)

Pipetas aforadas de 2,0 ; 5,0 ; 10,0 ml (clase A)

Pipeta automática de 1000 µl

Vaso de precipitado de 100 ml.

2.2 Parámetros instrumentales (datos a título de ejemplo)

Espectrofotómetro de absorción atómica

llama aire-acetileno oxidante (flujo-aire: 3,1 l/mn; flujo-acetileno: 1,8 l/mn)

longitud de onda : 589,0 nm

lámpara de cátodo hueco (sodio)

ancho de la hendidura : 0,2 nm

intensidad de la lámpara : 5 mA

no se corrige la absorción no específica

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Acido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 Solución de cloruro de cesio de 5 % de cesio :
Disolver 6,330 g de cloruro de cesio en 100 ml de agua desmineralizada pura para análisis.

3.4 Solución-madre de sodio de 1 g/l del comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 3,6968 g NaNO₃ en el agua, ajustar a 1 l.

3.5 Solución diluida de sodio de 10 mg/l :

Colocar 1 ml de la solución-madre de 1 g/l en un matraz aforado de 100 ml, 1 ml de ácido nítrico de 65 %, completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

3.6 Gama de calibración 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 mg de sodio por litro:

En una serie de matraces aforados de 100 ml, colocar 0 ; 2,5 ; 5,0 ; 7,5; 10 ml de la solución diluida de sodio ; agregar en todos los matraces aforados 2 ml de la solución de cloruro de cesio y ajustar el volumen a 100 ml con agua desmineralizada pura para análisis.

Las soluciones-patrón preparadas contienen 1 g de cesio por litro ; estas soluciones se conservan en frascos de polietileno.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

4.1. Productos enológicos bajo forma líquida o en solución

En un matraz aforado de 50 ml, colocar 1 ml de la solución de cloruro de cesio de 5% et un volumen de muestra tal que después de haber completado el volumen con agua desmineralizada la concentración de sodio a medir sea inferior a 1 mg/l.

4.2. Productos enológicos bajo forma sólida

Proceder a una mineralización por vía seca (retomar las cenizas con 2 ml de ácido clorhídrico en un matraz de 100 ml, agregar 2 ml de cloruro de cesio de 5% y completar al volumen con agua desmineralizada).

Realizar un blanco con agua desmineralizada.

5. DETERMINACIONES

Presentar sucesivamente las soluciones de calibración.

Hacer una lectura de la absorbancia durante 10 segundos; realizar dos mediciones.

Establecer la curva de calibración (absorbancia en función de la concentración en mg/l de sodio).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Sodio

Presentar a continuación las muestras ; determinar la concentración de sodio de las muestras diluidas en mg/l.

Deducir la concentración de sodio en los productos enológicos en mg/kg.

Las dosificaciones en llama aire-acetileno se realizan manualmente.

BUSQUEDA DE SULFATOS
(Oeno 18/2003)

En un tubo de ensayo de 160 x 16 mm, colocar el volumen prescrito de solución obtenida por el medio indicado en cada monografía; agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (R) ; ajustar a 20 ml con agua y agregar 2 ml de solución de cloruro de bario de 10 p. 100 (R).

Comparar la opalescencia o la eventual turbidez al de un testigo preparado con 1 ml de solución de 0,100 g de ácido sulfúrico por litro (o sea 0,10 mg de H₂SO₄) con la adición de 1 ml de ácido clorhídrico diluido (R) y de agua hasta el volumen de 20 ml y de 2 ml solución de cloruro de bario (R). Este tubo contiene 100 µg de H₂SO₄.

TANTALIZACION DE LAS PLATAFORMAS DE L'VOV DE GRAFITO
(Oeno 18/2003)

PREPARACION DE UNA SOLUCION DE TANTALO DE 6 % (m/v)
SEGUN EL PROCEDIMIENTO DE ZATKA :

Se colocan 3 gramos de polvo de tántalo en el interior de un vaso cilíndrico de teflón (R) de 100 ml

Agregar 10 ml de ácido fluorhídrico diluido a la mitad, 3 g de ácido oxálico deshidratado y 0,5 ml de agua oxigenada de 30 vol

Calentar el conjunto con precaución para disolver el metal.

Agregar algunas gotas de agua oxigenada a partir del momento en que la reacción se enlentece; cuando la disolución es completa, agregar 4 g de ácido oxálico y 30 ml de agua.

El ácido se disuelve y la solución se lleva a 50 ml con agua desmineralizada ultra pura.

Almacenar esta solución en un frasco de plástico.

TRATAMIENTO DE LAS PLATAFORMAS DE GRAFITO

La plataforma se pone en el interior de un tubo de grafito o de grafito pirolítico usado. Se fija el conjunto sobre la unidad de atomización del espectrofotómetro.

Se inyecta un volumen de 10 µl de la solución de tántalo sobre la plataforma con un distribuidor automático de muestras;

Poner la solución de tántalo en el lugar del blanco sobre el porta muestras.

El ciclo de temperaturas se fija según el programa siguiente:

secado a 100 °C durante 40 segundos

mineralización a 900 °C, durante 60 segundos

atomización a 2600 °C durante 2,5 segundos

El argón es utilizado como gas inerte.

REFERENCIA:

Zatka, Anal. Chem., vol 50, nº3, mars 1978

DOSIFICACION DEL ZINC
POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA
(Oeno 18/2003)

1 .PRINCIPIO

El zinc se dosifica directamente por espectrometría de absorción atómica en llama

2. APARATOS

Parámetros instrumentales: (datos a título de ejemplo)

espectrómetro de absorción atómica

llama aire-acetileno oxidante

longitud de onda: 213,9 nm

lámpara de cátodo hueco(zinc)

ancho de la hendidura: 0,5 nm

intensidad de la lámpara : 3,5 mA

corrección de la absorción no específica con una lámpara de deuterio.

3. REACTIVOS

3.1 Agua desmineralizada pura para análisis

3.2 Acido nítrico puro para análisis de 65 %

3.3 Solución madre de zinc de 1 g/l del comercio o preparada de la manera siguiente : disolver 4,5497 g de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en una solución de HNO_3 0,5 M, ajustar a 1 l con HNO_3 0,5 M.

3.4 Solución de zinc de 10 mg/l :

colocar 1 ml de solución madre de zinc en un matraz aforado de 100 ml, 1 ml de ácido nítrico (3.2) y completar al volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

3.5 Gama de calibración : 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 mg/l : colocar sucesivamente 1, 2, 3, 4, 5 ml de la solución de zinc de 10 mg/l en 5 matraces aforados de 50 ml, completar el volumen con agua desmineralizada pura para análisis.

4. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Les muestras líquidas o en solución deben tener concentraciones comprendidas entre 0 et 1 mg/l de zinc.

Les muestras sólidas serán mineralizadas por vía seca.

El blanco está constituido por agua pura para análisis conteniendo 1 % de ácido nítrico de 65 %.

5. MODO DE OPERAR

Pasar sucesivamente el blanco, las soluciones de calibración y las muestras de productos enológicos.

la lectura de las absorbancias es realizada durante 10 segundos y las mediciones se realizan en doble.

Las concentraciones de zinc de las muestras se obtienen a partir de los valores de las absorbancias.

Capítulo III
Reactivos y
Soluciones tituladas

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Lista de los reactivos y soluciones tituladas¹
Mención (R)²
(Oeno 19/2003)

Acético	ácido cristalizante 98 – 100% ácido diluido (10 p. 100 m/m) acetato neutro de plomo (ver Plomo) acetato de potasio (ver Potasio) acetato de sodio (ver Sodio) acetato de uranilo y de magnesio
Almidón	engrudo (sol. acuosa de 5 g/l)
Amonio	hidróxido, solución concentrada (20% NH ₃ , d(20/4)=0,92 hidróxido, solución diluída (10 g sol. concentrada / 100 g) hidróxido, solución acuosa de alrededor de 5 M cloruro solución de 20 p. 100 (m/m) citrato solución oxalato solución de 4 p. 100 (m/m) persulfato, solución a 15 p. 100 (m/m)
Anilina	reactivo
Plata	nitrate (99,5%) nitrate solución de 5 p. 100 (m/m) (R1) nitrate solución de 1 p. 100 (m/m) (R2) nitrate de plata solución amoniacal
Bario	cloruro BaCl ₂ .2H ₂ O solución de 10 p.100 (m/m)
Boro	ácido bórico H ₃ BO ₃ 99% ácido bórico solución concentrada de 4 p. 100 (m/v)
Bromo	agua de bromo Br ₂ (d(20/4)=3,12)

¹ esta lista no comprende las soluciones tituladas de ácidos, de hidróxido de sodio, de iodo, de nitrate de plata, etc.

² La composición de los reactivos « (R As) » es indicada a propósito de la dosificación del arsénico.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Bromofenol	(Azul de) tetrabromofenolsulfoneftaleína (Azul de) solución alcohólica
Bromotimol	(Azul de) dibromotimolsulfoneftaleína (Azul de) solución alcohólica
Bromocresol	(Verde de) tetrabromo-m-cresol-sulfoneftaleína (Verde de) solución alcohólica (Verde de) y rojo de metilo en solución (indicador mixto)
Calcio	acetato soluc. acuosa de 25 p. 100 (m/v) cloruro soluc. saturada cloruro soluc. de 20 p. 100 (m/v) hidróxido (lechada de cal) sulfato soluc. saturada
Catalizador de mineralización	
Cloramina T	solución de 1 p. 100 (m/v)
Cloro	ácido clorhídrico concentrado 35% (d(20/4)=1,19) ácido clorhídrico diluído a 30 p. 100 (v/v) ácido clorhídrico diluído a 10 p. 100 (m/m) ácido clorhídrico diluído a 10 p. 100 (v/v) dicromato de potasio (ver Potasio)
Cromo	dicromato de potasio (ver Potasio)
Cítrico, ácido	monohidratado 99% solución acuosa de 21 p. 100 (m/m) solución acuosa de 20 p. 100 (m/v) solución acuosa de 10 p. 100 (m/v) solución acuosa 5 p. 100 (m/v) solución acuosa 0,033 M solución clorhídrica solución ajustada a pH 3
Cobalto	cloruro $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solución acuosa de 5 p. 100 (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Cobre	sulfato $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sulfato, solución de 1 g de cobre por litro sulfato, solución de 0,01 g de cobre por litro solución amoniacal de sulfato de cobre(II) reactivo cupro-alcálico
Diclorofenolindofenol	sal sódica de la 2,6-dicloro-N-(4-hidroxifenil)- 1,4-benzoquinona monoimina dihidratada solución acuosa de 0,5 g por litro
Difenilcarbácida	1,5-difenilcarbonodihidrazida de 0,5 g por litro de solución alcohólica de 95% vol.
Ditizona	1,5-difeniltiocarbazona solución de 0,5 g/l en el cloroformo, preparación extemporánea
Agua oxigenada	(ver peróxido de hidrógeno)
Hierro	sulfato de hierro(II) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 99% solución de sulfato de hierro (II) de 5 p. 100 (m/m) sulfato de hierro (II) y de amonio $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 98,5% solución de sulfato de hierro (II) y de amonio de 10 p. 100 (m/m) sulfato de hierro (III) $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ solución de 0,01 g de hierro(III) por litro
Formaldeída	soluc. acuosa de 35 p. 100 (m/m)
Fucsina básica	mezcla de clorhidrato de rosanilina y de clorhidrato de pararosanilina. Solución decolorada por el dióxido de azufre
Hidrazina	diclorhidrato soluc. acuosa
Peróxido de hidrógeno	solución concentrada de 30 p. 100 (m/m) (= 110 volúmenes) solución diluida de 3 p. 100 (m/m) (= 10 volúmenes)
Iodo	99,5% agua iodada

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Indigo-sulfonato de sodio	(ver Sodio)
Indicador mixto	(ver Rojo de metilo)
Magnesio	cloruro $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 99% mixtura magnésica
Mercurio	óxido de mercurio(II) óxido amarillo de mercurio 99% Solución de sulfato de mercurio II
Metafenileno-diamina	(Ver m-feniléndiamina)
Metilo (rojo de)	(ver Rojo de metilo)
Metilo, anaranjado de	4' (dimetilamino)azobenzeno-4-sulfonato de sodio. Solución alcohólica de anaranjado de metilo de 1 p. 100 (m/v)
Molibdeno	reactivo (ver Nítrico)
Naftol	β -naftol (2 naftol) solución de 5 p. 100 (m/m)
Nítrico	ácido concentrado 63% ácido diluído a 10 p. 100 (m/m) reactivo nitromolíbico reactivo nitro-vanadomolíbico nitrato de plomo (ver Plomo)
Negro de eriocromo T	mordente negro 11 solución de 0,2 p. 100 (m/v) en la trietanolamina
Oxálico	ácido $C_2O_4H_2 \cdot 2 H_2O$ 99% sol.acuosa de 5 p. 100 (m/m)
m-Fenilenediamina Fenol (rojo de)	diclorhidrato $C_6H_8N_2 \cdot 3 HCl$ 99% (ver Rojo de fenol)
Fenolftaleína	solución de fenolftaleína de 1 p. 100 en el

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

	alcohol (m/v)
Fósforo	ácido fosfórico concentrado (ácido ortofosfórico) 85% d(20/4) = 1,70 solución diluída de ácido fosfórico de 50 p. 100 (m/m) solución diluída de ácido fosfórico de 25 p. 100 (m/v) dihidrógenofosfato (ver Potasio)
Plomo	acetato neutro de plomo $C_4H_6O_4Pb \cdot 3 H_2O$ solución acuosa de 10 p. 100 (m/m) (en agua sin dióxido de carbono) nitrato $Pb(NO_3)_2$ 99% solución acuosa de nitrato de plomo a 1 g de plomo por litro solución acuosa de nitrato de plomo a 0,01 g de plomo por litro.
Potasio	acetato $C_2H_3KO_2$ 99% solución acuosa de 5 p. 100 (m/m) anhidrosulfito $K_2S_2O_5$ (disulfito) 94% exento de selenio solución acuosa de anhidrosulfito de potasio de 2 p. 100 (m/m) cianuro KCN 98% solución acuosa de 10 g p. 100 ml solución acuosa de cianuro de potasio de 1 mg de ácido cianhídrico por litro dicromato $K_2Cr_2O_7$ 99% solución acuosa 10 p. 100 (m/m) solución acuosa 1 g de chrome par litre solución acuosa 0,01 g de chrome par litre dihidrógenofosfato H_2KPO_4 99% solución acuosa de 0,05 g de fósforo por litro hexacianoferrato(II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3 H_2O$ 98% solución acuosa 5 p. 100 (m/m) hidróxido KOH 85% solución acuosa 40%(m/m) ; d(20/4) = 1,38 ioduro KI 99% solución de ioduro de potasio iodada permanganato $KMnO_4$ 99% solución acuosa 5 p. 100 (m/m) solución acuosa 3 p. 100 (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

	<p>solución acuosa 2 p. 100 (m/m) solución acuosa 1 p. 100 (m/m) solución acuosa 0,5 p. 100 (m/m) solución acuosa 0,2 p. 100 (m/m) solución fosfórica de permanganato de potasio solución acuosa saturada tiocianato KSCN 99% solución acuosa de 5 p. 100 (m/m)</p>
Piridin-pirazolona	Reactivo
Quinina, sulfato	sulfato $C_{40}H_{48}N_4O_4 \cdot H_2SO_4 \cdot 2 H_2O$ 99% solución sulfúrica de sulfato de quinina de 0,1 mg por litro de ácido sulfúrico 0,05 M
Rosanilina	clorhidrato (ver Fucsina) solución acuosa 0,1 g p. 100 ml.
Rojo de metilo	ácido 4-dimetilamino-2-fenilazobenzoico solución alcohólica de rojo de metilo indicador mixto al rojo de metilo
Rojo de fenol	fenolsulfoneftaleína 98% solución de rojo de fenol
Selenio	dióxido S_eO_2 99%
Sodio	acetato $C_2H_3NaO_2 \cdot 3 H_2O$ solución acuosa 10% (m/m) borato (tetraborato) $Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$ 99% solución acuosa saturada Carbonato decahidratado $Na_2CO_3 \cdot 10 H_2O$ 99% solución acuosa 25 p. 100 (m/m) dietilditiocarbamato $C_5H_{10}NS_2Na \cdot 3 H_2O$ 99% sol. alcohólica de 1 p. 100 (m/v) etiléndiamintetracetato (edetato disódico) $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2 H_2O$ 98,5% solución acuosa 0,01 M fluoruro NaF 98,5 % solución acuosa 4 p. 100 (m/m) hidróxido solución concentrada (lejía de soda) de 30 p. 100 (m/m) ; $d(20/4) = 1,33$ solución acuosa diluída de hidróxido de sodio de 10 p. 100 (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

	hidrógenofosfato (fosfato disódico dihidratado) $\text{HNa}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 99,5% solución acuosa 10 p. 100 (m/m) pirofosfato $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ (tetrasodio difosfato decahidratado) 98% solución acuosa 1 p. 100 (m/m) tiosulfato $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 99% solución acuosa 25 p. 100 (m/v) índigo – sulfonato disódico (carmín de índigo) solución de carmín de índigo
Sulfhídrico	ácido, solución acuosa saturada ácido, solución acuosa de 1 g de azufre por litro ácido, solución acuosa de 0,01 g azufre por litro
Sulforesorcínico	Reactivo
Sulfúrico	ácido concentrado 95% $d(20/4)=1,83$ ácido concentrado 97% (m/m) solución acuosa 25 p. 100 (m/m) solución acuosa diluída 10 p. 100 (m/m) solución acuosa diluída 5 p. 100 (m/m) ácido excento de nitrógeno
Tampones	acetato purificado (búsqueda de zinc) pH 7,5 amoniacal
Tanino	definición solución acuosa 2 p. 100 (m/m) solución acuosa 4 p. 100 (m/v) solución acuosa 10 p. 100 (m/m)
Tioacetamida	reactivo
Uranilo	Nitrate $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 99% solución acuosa 4 p. 100 (m/v) acetato de uranilo $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 99% acetato de uranilo y de magnesio en solución aceto-hidroalcohólica
Verde de bromocresol	(ver Bromocresol)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Verde de
bromocresol y rojo
de metilo

(ver Bromocresol)

Zinc

solución 1 mg por litro

REACTIVOS Y SOLUCIONES TITULADAS

Acético (ácido) cristalizable

$\rho_{20} = 1,051$; contiene como mínimo 98,0 p. 100 (m/m) de $C_2H_4O_2$.

Acético (ácido) diluido

Solución acuosa conteniendo alrededor de 10 g de ácido acético en 100 g de reactivo.

$\rho_{20} = 1,0125$ aprox.

Almidón (engrudo de) de 0,5% (m/v)

En un mortero, moler 2,5 g de almidón soluble y 10 mg de ioduro de mercurio(II) con una cantidad de agua suficiente para obtener un caldo fluido. Introducir este último en 500 ml de agua en plena ebullición y mantener 10 minutos. El líquido obtenido es fluido. Si es necesario, filtrar.

Hidróxido de amonio, solución concentrada

$\rho_{20} = 0,922$.

Solución acuosa concentrada de gas amoníaco conteniendo alrededor de 20 g de amoníaco (NH_3) en 100 g de reactivo.

Hidróxido de amonio, solución diluída

Solución acuosa extendida de gas amoníaco conteniendo alrededor de 10 g de amoníaco (NH_3) en 100 g de reactivo.

$\rho_{20} = 0,959$ aprox.

Amonio (cloruro de) en solución

Solución acuosa conteniendo 20 g de cloruro de amonio en 100 g de reactivo.

Amonio (citrato de) en solución

Verter lentamente 500 ml de solución concentrada de hidróxido de amonio (R) en 400 g de ácido cítrico colocados en un matraz aforado de 1000 ml. La masa se calienta y se efectúa la disolución. Luego de enfriamiento, completar el volumen de 1000 ml con hidróxido de amonio concentrado (R).

Amonio (hidróxido de) en solución alrededor 5 M

Diluir 460 ml de hidróxido de amonio concentrado ($\rho_{20} = 0,922$) con una cantidad suficiente de agua para obtener 1 l.

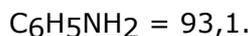
Amonio (oxalato d') en solución de 4% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 4 g de oxalato diamónico 100 g de solución.

Amonio (persulfato de) en solución de 15% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 15 g de persulfato de amonio por 100 g de solution.

Anilina



El producto empleado como reactivo debe ser límpido, un poco amarillo.

$$\rho_{20} = 1,020 \text{ à } 1,023.$$

En la destilación, 95 %. como mínimo deben pasar entre 183 °C y 185 °C.

Plata (nitrato de) en solución de 5% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de nitrato de plata desecado por 100 g de reactivo.

Plata (nitrato de) en solución de 1% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 1 g de nitrato de plata desecado por 100 g de reactivo.

Plata (nitrato de) en solución amoniacal

Solución amoniacal preparada con 10 g de nitrato de plata desecado por alrededor de 100 g de reactivo.

En 30 g de agua destilada, disolver 5 g de nitrato de plata desecado. Verter en esta solución, gota a gota y con cuidado, la solución de hidróxido de amonio diluída (R) hasta la redisolución casi completa del óxido de plata precipitado. Completar hasta 50 ml, filtrar y conservar el reactivo al abrigo de la luz en un frasco con tapón de vidrio.

Bario (cloruro de) en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, por 100 g de reactivo.

Bórico (ácido) concentrado en solución de 40 g por litro

Este ácido debe ser puro, enteramente soluble en agua (residuo insoluble inferior a 50 mg por 1 kg) y no bruñir durante la incineración (ausencia de materias orgánicas).

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

La solución acuosa de 40 g por 1 l de solución debe ser neutra al anaranjado de metilo. La coloración anaranjada de este indicador debe ser obtenida por menos de 3 ml de solución de ácido clorhídrico 0,1 M por 1 l de esta solución de 40 g por litro.

Un ácido bórico que no respondiera a estos ensayos puede ser purificado por filtración en caliente de una solución saturada hirviente de ácido bórico (de alrededor de 350 g por litro de agua) y cristalización por enfriamiento.

Preparar una solución de 40 g de este ácido concentrado por 1 l de solución.

Bromo (agua de)

Solución acuosa saturada de bromo, conteniendo alrededor de 3,5 g de bromo por 100 ml a 20 °C.

Azul de bromofenol en solución

Solución en alcohol a 95 % vol. conteniendo 0,04 g de azul de bromofenol en 100 ml en total.

Azul de bromotimol en solución

Solución en alcohol a 95 % vol. conteniendo 0,04 g de azul de bromotimol en 100 ml en total.

Calcio (acetato de) de 25% (m/v)

Solución acuosa de acetato de calcio a 25 g por 100 ml.

Calcio (acetato de) en solución pH 6

En un vaso cilíndrico colocar:

- carbonato de calcio	10 g
- ácido acético	12 g
- agua	100 ml

Calentar hasta disolución, ajustar el pH a 6 y ajustar a 1 l.

Calcio (cloruro de) en solución saturada

Contiene alrededor de 80 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ por 100 g de solución.

Calcio (cloruro de) en solución de 20% (m/v)

Solución acuosa conteniendo 20 g de cloruro de calcio cristalizado, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de reactivo.

Calcio hidróxido (lechada de cal) de 10% (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

La suspensión de hidróxido de calcio (lechada de cal) es obtenida tratando 10 g de óxido de calcio (cal viva) por alrededor de 90 g de agua hirviendo.

Calcio (sulfato de) en solución saturada

Solución acuosa saturada ; contiene alrededor de 0,2 g de CaSO₄ por 100 g.

Catalizador de mineralización

Pulverizar y mezclar :

- selenio	2,5 g
- sulfato de cobre(II)	5 g
- sulfato dipotásico	100g

Cloramina T solución de 1% (m/v)

Solución acuosa conteniendo 1 g de cloramina T (sal de sodio del *p*-tolueno N-clorosulfamida) por 100 ml de reactivo.

Clorhídrico (ácido) concentrado

Solución acuosa de ácido clorhídrico ($\rho_{20} = 1,18$ à $1,19$) conteniendo 35,5 a 37,25 g de ácido clorhídrico (HCl) en 100 g o 100 ml.

Clorhídrico (ácido) diluído de 30% (v/v)

Diluir 300 ml de ácido clorhídrico concentrado ($\rho_{20} = 1,19$) con una cantidad de agua suficiente para obtener 1 l.

Esta solución contiene alrededor de 13 g de HCl por 100 ml.

Clorhídrico (ácido) diluído de 10% (m/m) ($\rho_{20} = 1,0489$)

Solución acuosa conteniendo 10 g de gas clorhídrico (HCl) en 100 g.

Clorhídrico (ácido) diluído de 10% (v/v)

Solución acuosa de ácido clorhídrico conteniendo alrededor de 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (R) en 100 ml, es decir alrededor de 3,6 g HCl por 100 ml.

Cromotrópico (ácido)

Acido 1,8-dihidroxi-3,6- naftaleno -1,6-disulfónico (C₁₀H₈O₈S₂.2H₂O = 356,3).

Polvo blanco que se oscurece a la luz, soluble en el agua. Se emplea igualmente la sal disódica de este ácido, que se presenta bajo forma de un producto amarillo o marrón claro, muy soluble en el agua.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Solución de ácido cromotrópico de 0,05% (m/v)

Disolver 60 mg de sal de sodio del ácido cromotrópico en unos 80 ml de agua. Completar a 100 ml con agua..Utilización en 24 horas

Cítrico (ácido) en solución de 21% (m/m)

Solución acuosa de 21 g por 100 g.

Cítrico (ácido) en solución de 20% (m/v)

Solución acuosa de ácido cítrico de 20 g por 100 ml.

Cítrico (ácido) en solución de 10% (m/v)

Solución acuosa de ácido cítrico de 10 g por 100 ml.

Cítrico (ácido) en solución de 5% (m/v)

Solución acuosa de ácido cítrico de 5 g por 100 ml.

Cítrico (ácido) en solución 0,033 M

Solución conteniendo un décimo de equivalente gramo de ácido cítrico monohidratado por litro (es decir 7,003 g por litro).

Cítrico (ácido) en solución clorhídrica

Disolver 150 g de ácido cítrico monohidratado concentrado en 800 ml de agua ; agregar 100 ml de ácido clorhídrico concentrado y completar el volumen a 1 l.

Cítrico (ácido) en solución de 5 g por litro ajustada a pH 3

Disolver 5 g de ácido cítrico en 900 ml de agua. Agregar 8 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M y ajustar el volumen a 1 l.

Cobalto (cloruro de) en solución de 5% (m/m)

Solución conteniendo 5 g de cloruro de cobalto $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 100 g de reactivo.

Cobre (II) (sulfato de) solución de 1 g y 0,01 g por litro

La solución acuosa de 1 g de cobre por litro contiene 3,9295 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado por litro. Esta solución se diluye al centésimo para obtener la solución 0,01 g de cobre por litro.

Cobre (sulfato de) en solución amoniacal

Sulfato de cobre $\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 g
Agua	500 ml
Hidróxido de amonio concentrado (R)	300 ml

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Disolver el sulfato de cobre en el agua. Agregar hidróxido de amonio y homogeneizar.

Cupro-alkalino (reactivo)

El reactivo cupro-alkalino titulado contiene por 1000 ml :

Cobre, Cu 4,454 g

Se obtiene por medio de la mezcla de dos soluciones:

a) Solución de cobre(II) (C)

Pesar exactamente 35 g de sulfato de cobre (R) e introducir en un matraz aforado de 1000 ml con alrededor de 500 ml de agua destilada y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R). Agitar para disolver y completar a 20°C con agua destilada hasta el trazo de medición. Mezclar.

b) Solución tártrica alcalina (T)

Pesar 150 g de L-tartrato de potasio y de sodio (R) e introducirlos en un matraz aforado de 1000 ml conteniendo alrededor de 500 ml de agua destilada caliente. Agitar para disolver. Dejar enfriar y agregar 300 ml de solución concentrada de hidróxido de sodio (R) no carbonatada.

Completar a 20 °C con agua destilada el volumen de 1000 ml de solución. Mezclar.

10 ml de la solución C con el agregado de 10 ml de la solución T son reducidos en ebullición por 0,05 g de azúcar invertido, por 0,048 g de glucosa pura y por 0,0695 g de lactosa anhidra o por 0,073 g de lactosa hidratada.

2,6-diclorofenol-indofenol en solución

Disolver 0,50 g de 2,6-diclorofenol-indofenol en 200 ml de agua calentada a 90 °C. Dejar enfriar y completar a 1000 ml con agua. Filtrar.

Difenilcarbazida en solución

Solución de 0,50 g de difenilcarbazida en 1 l de alcohol de 95 % vol.

Agua oxigenada en solución diluída

Ver hidrógeno (peróxido de).

Hierro(II) (sulfato) en solución de 5 p. 100 (m/m)

Solución preparada extemporáneamente con agua destilada hervida conteniendo 5 g de sulfato de hierro(II) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 100 g de reactivo (el aire la oxida rápidamente).

Hierro(III) (sulfato) en solución saturée

Preparar una solución saturada de sulfato de hierro(III) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Hierro(II) (y amonio sulfato) en solución de 10 p. 100 (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de sulfato de hierro(II) y de amonio en 100 g de reactivo.

Hierro(III) (sal) en solución de 0,010 g de hierro por litro

Disolver 0,1 g de hierro puro en 20 ml de agua y 5 ml de H₂SO₄ concentrado (R). Calentar, agregar 10 gotas de HNO₃ concentrado (R) y llevar a ebullición 10 minutos para peroxidar el hierro. Ajustar el volumen a 1 l. Diluir 1/10.

Formaldeída en solución

Solución acuosa conteniendo 35 p. 100 (m/m) de formaldeída.

Fucsina decolorada por el ácido sulfuroso

8 g de anhídrosulfito de potasio se disuelven en 150 ml de agua destilada; agregar 30 ml de una solución de fucsina básica a 1 p. 1000 (m/v) en alcohol de 95 % vol. y 55 ml de ácido clorhídrico 3 M. Completar a 250 ml con agua destilada. Conservar en frasco amarillo tapado con esmeril.

Hydrazina (diclorhidrato de) en solución

Diclorhidrato de hidrazina	500 mg
Agua	c.s.p. 100 ml

Disolver el diclorhidrato de hidrazina en alrededor de 80 ml de agua, luego ajustar el volumen a 100 ml.
Reactivo a preparar extemporáneamente.

Hidrógeno (peróxido de) en solución a 3 volúmenes

Esta solución contiene 9,1 g de H₂O₂ por litro; ella libera 3 veces su volumen de oxígeno por descomposición catalítica por r MnO₂ en medio alcalino.

Iodada (agua)

Solución acuosa saturada de iodo.

Indigo-sulfonato de sodio

Sal de sodio del índigo disulfonado (impropiamente llamada carmín de índigo): C₁₆H₈O₈S₂N₂Na₂

Este producto en solución de 10 p. 100 (m/v) debe tornar al amarillo cuando se oxida con permanganato de potasio en medio

sulfúrico; 50 ml de esta solución necesitan de 14 a 17 ml de solución 0,02 M de permanganato de potasio.

Si, por oxidación permangánica, esta solución no torna al amarillo, conviene purificar el índigo-sulfonato de sodio por el procedimiento siguiente:

Poner 10 g de índigo-sulfonato de sodio en contacto con 50 ml de ácido sulfúrico concentrado (R). Al cabo de dos días, agregar 100 ml de agua; al día siguiente, filtrar. Desechar el filtrado de color herrumbre. Retomar el residuo 100 ml de agua, desechar nuevamente el filtrado. Disolver el residuo con 800 a 1000 ml de agua acidulada por 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R).

Solución de carmín de índigo : Disolver 0,2 g de carmín de índigo en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico (R) y 990 ml de solución de ácido sulfúrico exento de nitrógeno (R) de 200 g por litro.

Magnesio (cloruro) en solución 0,01 M

Disolver 0,45 g de óxido de magnesio puro MnO_2 en la cantidad necesaria de ácido clorhídrico diluído (R). Llevar a un litro. Titular esta solución por medio de la solución 0,01 M de etiléndiamintetracetato de sodio en presencia de negro eriocromo T.

Magnesiana (mixtura)

Disolver 82 g de cloruro de magnesio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) y 100 g de cloruro de amonio en 800 ml de agua. Agregar 400 ml de hidróxido de amonio concentrado ($\rho_{20} = 0,92$) (R). Mezclar.

Mercurio(II) (sulfato) en solución ácida

Solución acuosa y ácido de sulfato de mercurio(II) H_2SO_4 . En un matraz aforado de 200 ml, introducir 10 g de óxido de mercurio, 120 ml de agua y 75 g de ácido sulfúrico concentrado (R) (40 ml). Después de enfriamiento, ajustar el volumen a 200 ml.

Metafenilén-diamina (chlorhydrato de)

Polvo amorfo gris malva: $C_6H_8N_2 \cdot 2 HCl$.

Anaranjado de metilo en solución

Solución preparada con alcohol a 90 % vol. conteniendo 1 g de anaranjado de metilo en 100 ml de reactivo.

β -naftol en solución a 5% (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Disolver 5 g de β -naftol en 40 ml de solución de hidróxido de amonio concentrada (R) y ajustar el volumen a 100 ml con agua destilada. Preparar extemporáneamente.

Nítrico (ácido) concentrado

$$\rho_{20} = 1,39$$

El ácido nítrico concentrado contiene alrededor de 63 p. 100 de ácido nítrico (HNO_3).

Nítrico (ácido) diluido

$$\rho_{20} = 1,056$$

Solución conteniendo alrededor de 10 g de ácido nítrico (HNO_3) en 100 g de reactivo preparada con 15,8 g de ácido nítrico (11,35 ml) ($\rho_{20} = 1,39$) de 63 g por 100 g y 84,2 g de agua.

Nitromolíbico (reactivo)

Disolver 60 g de molibdato de amonio en 200 g de agua tibia. Filtrar si necesario. Verter poco a poco esta solución en 720 g de ácido nítrico Diluido agitando constantemente este último. Este ácido diluido se obtiene mezclando, 370 g de ácido nítrico concentrado (R) con 350 g de agua. Dejar reposar 8 días. Ajustar el volumen a 1000 ml con agua destilada. Filtrar o decantar.

Este reactivo, calentado a 40 °C, no debe dejar depositar un precipitado.

Sensibilidad : 25 μg de fósforo por 5 ml.

Nitro-vanado-molíbico (reactivo)

Preparar las soluciones siguientes:

A) Solución de molibdato de amonio	
Molibdato de amonio	100 g
Hidróxido de amonio concentrado (R)	10 ml
Agua destilada	c.s.p.1000 ml
B) Solución de vanadato de amonio	
Metavanadato de amonio	2,35 g
Agua destilada	500 ml

Calentar ligeramente para disolver. Después de la disolución completa, enfriar y agregar poco a poco, agitando la mezcla siguiente:

Acido nítrico concentrado (R)	7 ml
Agua destilada	13 ml
Completar con agua destilada el volumen de 1000 ml. Mezclar.	

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Para obtener el reactivo nitro-vanado-molbídico, mezclar en un matraz aforado de 500 ml, 67 ml de ácido nítrico concentrado (R), 100 ml de la solución molbídica (A), 100 ml de la solución nitro-vanádica (B) y ajustar el volumen a 500 ml. Mezclar.

Negro eriocromo T en solución

Solución conteniendo 0,2 g de negro eriocromo T en 100 ml de trietanolamina.

Oxálico (ácido) en solución

Solución acuosa conteniendo 5 g de ácido oxálico cristalizado $C_2O_4H_2 \cdot 2H_2O$, en 100 g de reactivo.

Fenolftaleína en solución

Solución preparada con alcohol a 90 % vol. conteniendo 1 g de fenolftaleína en 100 ml de reactivo.

Fosfórico (ácido) solución de 85% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 85 g de ácido (H_3PO_4), $\rho_{20} = 1,70$, por 100 g.

Fosfórico (ácido) solución de 25% (m/v)

Solución acuosa conteniendo 25 g de ácido fosfórico (H_3PO_4), $\rho_{20} = 1,70$, en 100 ml.

Fosfórico (ácido) solución de 50% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 50 g de ácido ortofosfórico (H_3PO_4), $\rho_{20} = 1,70$ en 100 g.

Fosfato (solución de 0,05 g de fósforo por litro)

Potasio dihidrógenofosfato

Disolver 4,392 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 l. Esta solución contiene 1 g de fósforo por litro. Diluir al vigésimo para obtener la solución de 0,05 g por litro.

Plomo (nitrato de) en solución de 1 g y de 0,01 g de plomo por litro

Disolver 1,60 g de nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$ en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 l de solución de 1 g de plomo por litro.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Esta solución se diluye al centésimo para obtener la solución de 0,01 g de plomo por litro.

Plomo (acetato neutro de) en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de acetato de plomo(II) $Pb(C_4H_6O_4) \cdot 3H_2O$ en 100 g de reactivo.

Potasio (acetato de) en solución de 5% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de acetato de potasio $KC_2H_3O_2$ cristalizado en 100 g de reactivo CH_3CO_2K .

Potasio sulfito

Potasio (anhidrosulfito de) $K_2S_2O_5$ (antiguamente disulfito de potasio) exento de selenio.

Para la búsqueda de selenio en el dióxido de azufre, debe utilizarse anhidrosulfito de potasio exento de selenio. Para controlar la ausencia de selenio, realizar el ensayo siguiente:

Pesar 2,55 g de la muestra de anhidrosulfito de potasio, disolverlos en caliente en 7 ml de agua destilada y 2 ml de ácido clorhídrico concentrado(R). Dejar enfriar y agregar 3 ml de soluto de formaldeído (R). Dejar reposar 10 minutos. Colocar el tubo en un baño de agua a $\approx 100^\circ C$ y agregar 50 mg de la muestra de anhidrosulfito de potasio pulverizado.

La toma de ensayo total es de 2,60 g de anhidrosulfito de potasio correspondiente a 1,50 g de dióxido de azufre. No debe desarrollarse una coloración rosada.

Potasio (anhidrosulfito de) en solución de 2% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 2 g de anhidrosulfito de potasio cristalizado en 100 g de reactivo.

Potasio (cianuro de) en solución de 1 mg de ácido cianhídrico por litro.

Preparar una solución acuosa conteniendo 2,44 g de KCN por litro; diluir a $1/100^\circ$ para obtener la solución titulante de 1 mg de ácido cianhídrico por litro.

Potasio (dicromato de) de 1 g y 0,01 g de cromo por litro

Disolver 2,8283 g de dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$ en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 l de solución a 1 g de cromo

por litro. Esta solución se diluye al centésimo para obtener la solución de 0,01 g de cromo por litro.

Potasio (dicromato de) en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de dicromato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (hexacianoferrato(II) de), Potasio (Ferricianida de) en solución de 5% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de hexacianoferrato de potasio cristalizado $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ en 100 g de reactivo.

Potasio (hidróxido de) de 40%

Disolver 40 g de hidróxido de potasio (KOH) en una cantidad de agua suficiente para obtener 100 ml.

Potasio (ioduro de) en solución iodada

Solución iodo-iodurada – solución acuosa de iodo I_2 en ioduro de potasio (KI).

En un frasco con tara y con un tapón de vidrio, introducir 2 g de iodo, 4 g de ioduro de potasio y alrededor de 10 g de agua. Dejar operarse la disolución y luego completar con agua el peso de 100 g.

Potasio (permanganato de) en solución de 5% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de permanganato de potasio ($KMnO_4$) en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) en solución de 3% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 3 g de permanganato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) en solución de 2% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 2 g de permanganato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) en solución de 1% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 1 g de permanganato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) en solución de 0,2% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 0,2 g de permanganato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) en solución saturada

Solución acuosa saturada conteniendo alrededor de 6 g permanganato de potasio en 100 g de reactivo.

Potasio (permanganato de) de 5 p. 1000 (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de permanganato de potasio en 1000 g de reactivo.

Potasio (tiocianato de) en solución de 5% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 5 g de tiocianato de potasio KSCN en 100 g de reactivo.

Piridin-pirazolona (reactivo)

Bis-(1-fenil-3-metil-5-pirazolona). (F 320 °C) - Disolver 17,4 g de 1-fenil-3-metil-5-pirazolona en 100 ml de alcohol de 95 % vol., agregar 25 g de fenilhidracina recientemente destilada, llevar a ebullición bajo reflujo durante 4 horas. La mezcla se filtra en caliente y el precipitado se lava varias veces con alcohol de 95 % vol.

La ebullición bajo reflujo podrá prolongarse más allá de 4 horas si la aparición de cristales amarillos es poco abundante después de ese tiempo.

Preparación del reactivo piridin-pirazolona. - En un matraz aforado de 100 ml, introducir 0,150 g de 1-fenil-3-metil-5-pirazolona y disolverlos en 50 ml de alcohol de 95 % vol. destilado sobre hidróxido de potasio. Completar 100 ml con agua destilada.

Por otra parte, pesar 20 mg de bis-1-fenil-3-metil-5-pirazolona y disolverlos por agitación prolongada en 20 ml de piridina.

Mezclar las dos soluciones así obtenidas vertiéndolas en un frasco de vidrio amarillo envuelto en papel negro. Conservar en el refrigerador.

Quinina (sulfato de) en solución de 0,1 mg por litro de ácido sulfúrico 0,05 M

Disolver 0,100 g de sulfato de quinina en una cantidad suficiente de ácido sulfúrico 0,05 M para obtener 1 l. Diluir tres veces 1/10 esta solución con una solución 0,05 M de ácido sulfúrico para obtener la solución de 0,1 mg de sulfato de quinina por litro.

Rosanilina (clorhidrato de) en solución decolorada por ácido sulfuroso

En un mortero, pulverizar 30 ml de clorhidrato de rosanilina pura, luego agregar 30 ml de alcohol de 95 % vol. La disolución es rápida y

completa. Por otra parte, en un matraz aforado de 250 ml, disolver 8 g de anhídrosulfito de potasio en alrededor de 150 ml de agua destilada. Agregar la solución alcohólica de clorhidrato de rosanilina, luego 55 ml de solución 3M de ácido clorhídrico y llevar al trazo de medición con agua. El reactivo debe ser completamente decolorado en menos de una hora y permanece estable durante varios meses.

Rojo de metilo en solución

Solución en alcohol de 90 % vol. conteniendo 0,10 g de rojo de metilo en 50 ml de reactivo.

Indicador mixto al rojo de metilo :

Solución en el alcohol a 90% vol. conteniendo 0,10 g de rojo de metilo y 0,05 M de azul de metileno en 10 ml de reactivo.

Rojo de fenol en solución

Calentae 0,05 g de rojo de fenol con 2,85 ml de solución 0,05 M de hidróxido de sodio y 5 ml de alcohol de 90 % vol. A la solución obtenida, agregar una cantidad suficiente de alcohol de 20 % vol. para obtener 250 ml.

Selenio (dióxido de) en solución de 100 mg de selenio por litro

Moler 2 g de dióxido de selenio puro (SeO_2) y dejar 24 horas en un desecador de ácido sulfúrico. Pesar 1,4553 g de este dióxido seco y disolverlos en una cantidad de agua suficiente para obtener 1 l de solución.

Esta solución contiene 1 g de selenio por litro. Diluir 1/10 con agua destilada para obtener la solución de 100 mg de selenio por litro.

Sodio (acetato de) - $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ = 136,1.

La sal empleada como reactivo debe ser neutra.

Sodio (acetato de) en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de acetato de sodio $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 100 g de reactivo.

Sodio (borato de) en solución saturada

Solución acuosa saturada conteniendo alrededor de 4 g de borato de sodio cristalizado por 100 g de solución. Tetraborato de sodio $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Sodio (carbonato neutro) en solución de 25% (m/m)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Solución acuosa conteniendo 25 g de carbonato disódico cristalizado a 10 H₂O en 100 g de reactivo. Na₂CO₃.10H₂O

Sodio (dietilditiocarbamato de) en solución de 1% (m/v)

Disolver 1 g de dietilditiocarbamato de sodio en una cantidad suficiente de alcohol de 40 p. 100 vol. para obtener 100 ml de solución. (C₂H₅)₂NCS₂Na.3H₂O

Sodio (etiléndiamintetracetato de) en solución 0,01 M

Etiléndiamintetracetato de sodio	4,0 g
Cloruro de magnesio, MgCl ₂ .6H ₂ O	0,1 g
Agua	c.s.p. 1000 ml

El título de esta solución debe ser verificado y ajustado después de un titulado por una solución de cloruro de calcio 0,01 M obtenida disolviendo 1 g de carbonato de calcio puro en 25 g de ácido clorhídrico concentrado (R) con la adición de 20 ml de agua y ajustando el volumen a 1000 ml con agua destilada.

Sodio (fluoruro de) en solución de 4% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 4 g de fluoruro de sodio (NaF) en 100 g de reactivo. Esta solución es casi saturada.

Sodio (hidróxido de) en solución concentrada (lejía de soda)

Solución acuosa de densidad 1,330 conteniendo 30 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 100 g de solución.

Sodio (hidróxido de) en solución diluida de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de hidróxido de sodio en 100 g de reactivo.

Sodio (fosfato de) en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de fosfato disódico (Na₂HPO₄) en 100 g de reactivo.

Sodio (pirofosfato de) de 1% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 1 g de pirofosfato tetrasódico cristalizado, Na₄P₂O₇.10H₂O, en 100 g de reactivo.

Sodio (tiosulfato de) en solución de 25% (m/v)

Solución acuosa conteniendo 25 g de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) por 100 ml.

Sulfhídrico (ácido) en solución saturada

Solución acuosa saturada de ácido sulfhídrico. La solución contiene alrededor de 3,8 g de H₂S por litro y se altera en contacto con el aire.

Sulfhídrico (ácido) solución de 1 g de azufre por litro y de 0,01 g por litro

Disolver 7,5 g de Na₂S·9H₂O en una cantidad suficiente de agua para obtener 1 l. Esta solución se diluye al centésimo para obtener la solución 0,01 g por litro (soluciones rápidamente oxidadas por el aire).

Sulforesorcínico (reactivo)

Disolver 2 g de resorcina pura en 100 ml de agua y agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado (R).

Sulfúrico (ácido) concentrado de 95% como mínimo

$\rho_{20/4} = 1,83 \text{ à } 1,84.$ (H₂SO₄)

Sulfúrico (ácido) de 97% (m/m)

Este ácido absolutamente incoloro no debe poder diferenciarse después de calentar a 120 °C de un testigo no calentado. Debe ser conservado en frascos cerrados con tapones de esmeril. Su título debe ser de 97 ± 1 p. 100.

Sulfúrico (ácido) de 25% (m/m)

$\rho_{20/4} = 1,1808$ aprox.

Solución acuosa de ácido sulfúrico conteniendo alrededor de 25 g ácido H₂SO₄ en 100 g de reactivo.

Sulfúrico (ácido) diluido a 10% (m/m)

$\rho_{20/4} = 1,0682$ environ.

Solución acuosa de ácido sulfúrico conteniendo alrededor de 10 g de ácido H₂SO₄ en 100 g de reactivo.

Sulfúrico (ácido) diluido a 5% (m/m)

Solución acuosa de ácido sulfúrico conteniendo alrededor de 5 g de ácido H₂SO₄ en 100 g de reactivo.

Sulfúrico (ácido) exento de nitrógeno, debe ser sometido al ensayo siguiente: Nitrato. A 5 ml de agua agregar, con precaución, 45 ml de ácido sulfúrico sin nitrógeno, dejar enfriar a 40 °C y agregar 8 mg de difenilbenzidina. La solución es levemente rosada o azul pálido.

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Tampón acetato, purificado, para la búsqueda de zinc

Disolver 136 g de acetato de sodio en 440 ml de agua, agregar 58 ml de ácido acético concentrado. Purificar esta solución por agitación con una solución de ditizona de 125 mg por litro de cloroformo.

Tampón amoniacal

Hidróxido de amonio concentrado	350 ml
Cloruro de amonio	54 g
Agua destilada	q.s.p. 1000 ml

Tampón pH 7,5

Fosfato monopotásico	94 g
Hidróxido de sodio en solución molar	565 ml
Agua destilada	c.s.p. 1 000 ml

Tanino puro

El tanino, llamado tanino al éter o tanino oficial, es obtenido a partir de la nuez de agalla de Alep.

Se presenta en masa ligera, blanco amarillento, muy soluble en agua y en el alcohol de 90 % vol. Es insoluble en el éter etílico. Debe cumplir con los requisitos siguientes:

1° La solución acuosa de tanino de 10 p. 100 debe ser límpida y presentar un color amarillo muy claro, comparable al color del vino blanco. La solución de tanino de 10 p. 100 en el alcohol de 90 % vol. deberá ser también límpida y poco coloreada.

Una solución de 1 g de tanino en 5 g de agua que haya sido adicionada de su volumen de alcohol de 90 % vol. y de la mitad de su volumen de éter etílico, debe dar una solución límpida (extracto acuoso o extracto alcohólico).

2° El tanino oficial debe ser combustible sin dejar residuo superior a 0,05 p. 100 (materias minerales fijas).

3° Desechado a 100 °C, el tanino oficial no debe perder más de un 12 p. 100 de su peso (agua en exceso). El contenido en tanino anhidro se deduce de este ensayo. Su conocimiento es necesario para la preparación de la solución de 4 p. 1000.

Tanino en solución de 2% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 2 g de tanino en 100 g de reactivo. Debe ser preparada extemporáneamente.

Tanino en solución de 4% (m/v)

CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL
Reactivos y soluciones tituladas

Disolver una cantidad de tanino puro conteniendo 1 g de tanino anhidro en una cantidad de agua suficiente para obtener 250 ml.

Tanino en solución de 10% (m/m)

Solución acuosa conteniendo 10 g de tanino en 100 g de reactivo.

Tioacetamida (reactivo a la)

F \cong 113 °C

A 0,2 ml de solución acuosa de tioceramida de 40 g/l, agregar 1 ml de una mezcla de 5 ml de agua, de 15 ml de hidróxido de sodio 1 M y de 20 ml de glicerol de 85 p. 100 (m/m). Calentar en un baño de agua 100 °C durante 20 segundos. Preparar extemporáneamente.

Urnilo (nitrato de) en solución de 4% (m/m)

Solución conteniendo 4 g de nitrato de urnilo $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 100 g de reactivo.

Urnilo y magnesio (acetatos) en solución hidro-alcohólica y acética

Disolver 32 g de acetato de urnilo cristalizado y 100 g de acetato de magnesio en 300 ml de agua, 20 ml de ácido acético y 500 ml de alcohol de 95 % vol. calentando sobre baño de agua a 100 °C y agitando; ajustar el volumen a 1 litro con agua destilada y dejar reposar 48 horas; decantar o filtrar.

Este reactivo debe ser conservado al abrigo de la luz. Deben emplearse 2,5 ml de reactivo por miligramo de sodio a precipitar y por mililitro de solución a tratar.

Los fosfatos, arseniatos y fluoruros deben estar ausentes de esta solución. Los metales pesados, hierro(II) y alcalino-terrosos no representan un problema.

Verde de bromocresol en solución

Solución en alcohol de 95 % vol. conteniendo 0,04 g de verde de bromocresol (3',3'',5',5''-tetrabromo-*m*-cresolsulfon-ftaleína) por 100 ml de reactivo.

Verde de bromocresol y rojo de metilo en solución (indicador mixto)

Disolver

Verde de bromocresol	0,04 g
Rojo de metilo	0,06 g
en alcohol de 95 % vol.	100 ml

Agregar 2,5 ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 M.

Este indicador torna del rojo (pH 4,6), al azul verdoso a pH 4,9. Es violeta a pH 4,75.

Zinc en solución de 1 mg por litro

Disolver 1 g de zinc puro en un mínimo de ácido clorhídrico concentrado (R) calentando ligeramente. Diluir la solución de 500 ml y neutralizar por adición de carbonato de sodio hasta la aparición de un ligero precipitado que se hace desaparecer con algunas gotas de ácido clorhídrico.

Diluir sucesivamente 3 veces 1/10 en el momento de su utilización.

Conforme a la jurisprudencia, la OIV no puede ser considerada como responsable por las omisiones o errores involuntarios que, a pesar del cuidado con el que se ha realizado la redacción de la obra, puedan haberse producido. La reproducción de los textos publicados en esta obra está prohibida. Los textos son propiedad de la OIV, que se reserva el derecho de reproducción y de traducción en todo el mundo. La ley prohíbe las copias o reproducciones destinadas a una utilización colectiva. Cualquier representación o reproducción integral o parcial hecha por medio de cualquier procedimiento sin el consentimiento de la OIV es ilícita y constituye una falsificación.

© O.I.V. - 2006

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO

18, rue d'Aguesseau

75008 PARIS

Tél. (33) 01.44.94.80.80 - Tlc. (33) 01.42.66.90.63

E-mail: oiv@oiv.int - www.oiv.int